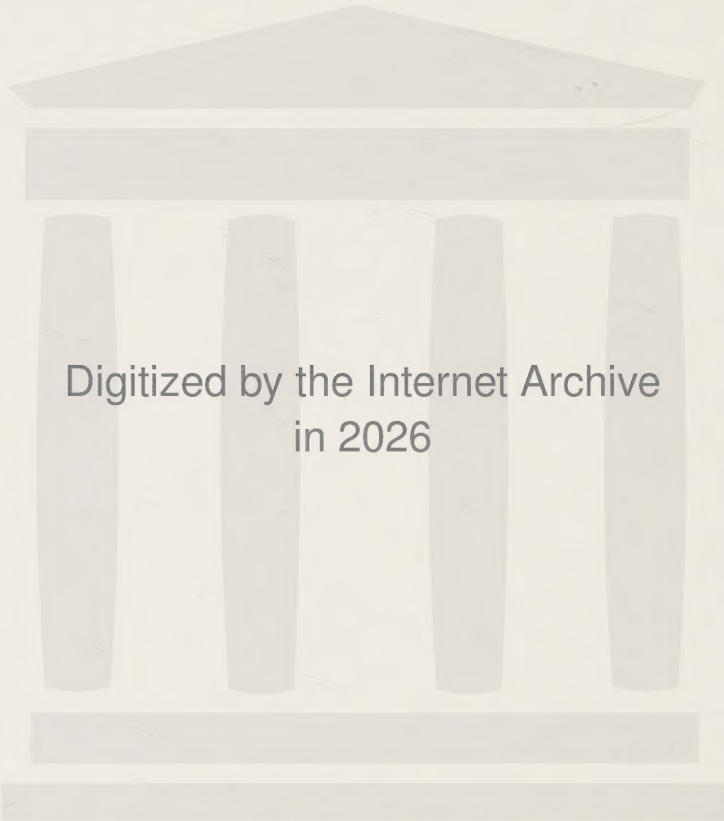


Immunologische Parameter
bei Patienten mit chronischer
Polyarthrititis (c.P.) und Rheumaknoten

Josef Kattum

*Dr. Kattum
München
1986*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554826_0003

Aus der Medizinischen Poliklinik

Direktor: Prof. Dr. N. Zöllner

und der Medizinischen Klinik III, Klinikum Großhadern

Direktor: Prof. Dr. W. Wilmanns

Ludwig-Maximilians-Universität München

Immunologische Parameter bei Patienten

mit chronischer

Polyarthrititis (c.p.) und Rheumaknoten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Josef Kattum

aus

Roßhaupten

1984

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. M. Schattenkirchner

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 12.03.1985

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
1.1. Chronische Polyarthrititis	1
1.1.1. Allgemeines	3
1.1.2. Chronische Polyarthrititis mit Rheumaknoten	6
1.1.3. Immunologische Veränderungen bei chronischer Polyarthrititis	7
1.2. Ziele der vorliegenden Untersuchung	17
2. MATERIAL UND METHODEN	19
2.1. Probanden	19
2.2. HLA-System	20
2.2.1. Allgemeines	20
2.2.2. Verwendete Reagenzien	22
2.2.3. Technik	23
2.3. Lymphozytenkinetik	25
2.3.1. Allgemeines	25
2.3.2. Verwendete Reagenzien	29
2.3.3. Gewinnung der Lymphozyten	32
2.3.4. Kulturverfahren	34
2.3.4.1. Mitogen- und Antigenkulturen	34
2.3.4.2. Suppressorzellansatz	36

2.3.5.	Markierungsverfahren	38
2.3.6.	Ernte- und Szintillationsverfahren	38
2.4.	Statistische Methoden	39
3.	ERGEBNISSE	41
3.1.	Chronische Polyarthrititis, Gesamtkollektiv	41
3.2.	Chronische Polyarthrititis mit Rheumaknoten	47
3.3.	Zusammenfassung der Ergebnisse	52
4.	DISKUSSION	71
5.	ZUSAMMENFASSUNG	80
6.	LITERATURNACHWEIS	82

1. E I N L E I T U N G

1.1. CHRONISCHE POLYARTHRITIS

Der Begriff "Rheuma" stammt aus dem Altgriechischen und bedeutet "Fließen". Charakterisiert werden auch heute noch die Gelenkbeschwerden des rheumatischen Fiebers mit "fließend", von einem Gelenk zum anderen springend. Zum Sammelbegriff Rheuma werden nun Erkrankungen des Bindegewebes und schmerzhafte Störungen des Bewegungsapparates gezählt, sie sämtlich potentiell zur Ausbildung chronischer Symptome führen können (191). Darunter fallen:

- entzündlicher Rheumatismus mit rheumatischem Fieber, chronische Polyarthritiden einschließlich Still-, Felty- und Sjögren-Syndrom, Morbus Reiter, Arthritis psoriatica, Spondylarthritis ankylopoetica
- degenerativer Rheumatismus
- extraartikulärer Rheumatismus mit Muskelrheuma, Pannikulitis, Bursitis, Tendovaginitis, Periathritis u. a. mehr.

Diese Einteilung berücksichtigt nicht die Ätiologie der rheumatischen Erkrankungen und es handelt sich nicht um nosologische Einheiten, die zusammengefaßt bzw. unterschieden werden.

Unter allen Erkrankungen nun verursacht der rheumatische Formenkreis bei weitem die höchsten Kosten: Nach Zahlen der Deutschen Rheumaliga (100) wurden 1976 für die medizinische Versorgung ca. 7 Milliarden DM

ausgegeben, die indirekten Kosten für Arbeitsunfähigkeitstage und Frühinvalidität lagen bei etwa 30 Milliarden DM. Die Zahl der von den Rentenversicherungsträgern für diese Krankheiten durchgeführten Heilverfahren lag noch vor denen für Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebs und Diabetes durchgeführten bei einem Anteil von 31,3 % an allen stationären Heilbehandlungen (191). Etwa eine Million Menschen in der Bundesrepublik leiden an einem entzündlichen Rheuma und bedürfen der ständigen Behandlung und Überwachung. Soweit zur sozialmedizinischen Bedeutung der rheumatischen Erkrankungen.

Die chronische Polyarthrititis kommt unabhängig von geographischen Faktoren (10) bei ca. 0,5 % - 3,8 % der Bevölkerung vor, je nachdem, ob mit den ersten fünf Kriterien der American Rheumatism Association (ARA) - Morgensteifheit - Bewegungsschmerz oder Druckdolenzen mindestens in einem Gelenk - Schwellungen mindestens in einem Gelenk - Schwellungen mindestens in einem weiteren Gelenk - symmetrische Schwellung von Gelenken mit gleichzeitiger Beteiligung der gleichen Gelenke auf beiden Körperseiten - (159) nur das aktive Krankheitsbild oder mit den klinischen New York-Kriterien (NY) - Anamnese von mindestens drei schmerzhaften Gelenken oder Gelenkgruppen der Gliedmaßen - Schwellung, Bewegungseinschränkung, Subluxation und/oder Ankylose mindestens dreier Gelenke - röntgenologische Veränderungen (Erosionen) - positiver Rheumafaktor - (13) auch inaktive Verlaufsformen berücksichtigt werden. Der Altersgipfel liegt bei ca. 40 Jahren (5),

der Beginn der Erkrankung liegt bei 70 % der Patienten um diese Zahl herum im dritten bis siebten Lebensjahrzehnt (81). Frauen erkranken etwa zwei- bis viermal häufiger als Männer (5, 10, 81), allerdings verwischt sich der Unterschied mit zunehmendem Alter. Familienuntersuchungen ergaben ein geringfügig häufigeres Vorkommen der chronischen Polyarthrititis bei Verwandten ersten Grades (57).

1.1.1. ALLGEMEINES

Die Krankheit beginnt in der Regel schleichend. Ein oft jahrelanges Prodromalstadium geht ihr voraus. In etwa 25 % der Fälle beginnt sie akut mit Fieber und plötzlichen Gelenkergüssen (91). Bei der Sektion findet man ein gefäßreiches, stark proliferierendes Granulationsgewebe, das meist vom Stratum synoviale im Bereich des Gelenkrecessus ausgeht und zentripetal in die angrenzenden Gelenkstrukturen einwächst - den Pannus. Dieser Pannus kann Gelenkknorpel und den subkartilaginären Knochen zerstören, aber auch Stratum fibrosum, Bänder und Sehnen durchwachsen; häufiges Endstadium ist die fibröse Ankylose (49, 77). Die Stellungsanomalien lassen sich aus der Pathophysiologie des Muskel-Sehnen-Apparates erklären. Weitere Befunde bei etwa der Hälfte der schweren und länger dauernden Fälle sind eine Arteriitis von Herz, Muskeln, seltener der Vasa nervorum, und eine periphere obliterierende Endarteriitis mit Gefäßverschlüssen (27). Manifestation der Krankheit

sind außerdem an Augen, Lunge und Leber zu finden (5). Oft kompliziert eine sekundäre Amyloidose oder das gemeinsame Auftreten von chronischer Polyarthrititis mit einer Kollagenose wie Lupus erythematoses das Bild (5, 49). Erst in den letzten Jahren wurde die Bedeutung von Struktur und Funktion des Stratum synoviale für Gelenkerkrankungen erkannt. Beim Gesunden wird es zur Gelenkhöhle hin von zwei Arten von Synovialiszellen begrenzt: Typ A-Zellen sind zwar keine klassischen Makrophagen, da ihnen der Komplementrezeptor fehlt (189), ihrer Struktur nach jedoch Phagozyten. Typ B-Zellen stammen von Fibroblasten ab (125), ihre Aufgabe ist die Synthese von Mukopolysacchariden. Vom darunterliegenden gefäßreichen Bindegewebe sind die Synovialisdeckzellen nicht durch eine Basalmembran getrennt. Die Synovia enthält ein Ultrafiltrat des Blutplasmas, außerdem Hyaluronsäure, die von B-Zellen sezerniert wird. Daneben kommen Zellen in einer Konzentration von $200/\text{mm}^3$ vor, 7 % Granulozyten, 64 % Monozyten, 25 % Lymphozyten und 4 % Synovialiszellen.

Beim Erkrankten nun führen je nach Aktivität und Stadium des Prozesses exsudative und proliferative Veränderungen zu folgenden Befunden (4, 92): A- und B-Zellen sind vermehrt, die Synovialiszellschicht ist verbreitert (111), beide Zelltypen zeigen Zeichen höherer Aktivität, wie Mehrkernigkeit (88), und Zellbrücken. Sogenannte "Reiskörperchen" in der Synovia entstehen durch Abtrennung hyperplastischer Mikrovilli der Synovialis. Das Kollagen weist weniger alkalistabile Quervernetzungen auf (181). Die Proliferation und Transformation der Bindegewebszellen im Stratum syno-

viale führt zu einem Gewebe, das Ähnlichkeit mit einem mesenchymalen Bindegewebe hat. Als Zeichen der Exsudation kommt es zu einem vermehrten Einstrom von großmolekularen Plasmabestandteilen und zu fibrinoiden Nekrosen der Synovialiszellschicht, als Zeichen eines veränderten Stoffwechsels ist der Gehalt an O_2 und Glucose erniedrigt, Lactat und CO_2 erhöht, der pH-Wert fällt ab (33). Die Synovialiszellen bilden weniger Glykosaminoglykanproteide und eine niedriger polymerisierte Hyaluronsäure (34). Die Synovia des Polyarthritikers ist vermehrt, doch weniger viskös, das Verhältnis von Hyaluronsäure zu Protein sinkt von 50 : 1 auf 10 : 1 (176), pathologische Hyaluronat-Protein-Komplexe sind auffallend (169). Serologisch lassen sich Befunde erheben, die darauf hinweisen, daß die chronische Polyarthrititis eine Allgemeinerkrankung ist (5): Bei der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit sind Werte zwischen 40 und 80 mm nach der ersten Stunde typisch, was u. a. durch die Vermehrung des Fibrinogens, der α -, β - und γ -Globuline und die Verminderung der Albumine bedingt ist. Weiter sinkt der Serumeisengehalt, es kann sich eine normo- bis hyperchrome Anämie entwickeln, während das Serum-Kupfer ansteigt.

Da die genaue Ursache all dieser Veränderungen noch weitgehend im Dunkeln liegt, greift eine Therapie bisher nur symptomatisch: Vom Chirurgen werden die zerstörten Knochen durch Prothesen ersetzt, Sehnenansätze verlegt, Bänder wiederhergestellt, die erkrankte Synovialis entfernt. In der Inneren Medizin (5) kommen Antirheumatika und Corticoide zum Einsatz, die

die analgetisch, antiphlogistisch und antipyretisch wirken. Bei den sogenannten Basistherapeutika handelt es sich um Chloroquin-Derivate, Goldverbindungen und D-Penicillamin, deren Wirkmechanismus größtenteils noch ungeklärt ist. Die Behandlung mit Immunsuppressiva bleibt nach anfangs hoffnungsvollen Erfolgen wenigen Fällen, malignen und lupoiden Verlaufsformen vorbehalten. Und schließlich seien noch die medizinische Strahlenkunde und die physikalische Therapie, die eine große Rolle in der Rehabilitation spielt, erwähnt.

1.1.2. CHRONISCHE POLYARTHRITIS MIT RHEUMAKNOTEN

In ca. zwei bis 30 % der Fälle – die Angaben schwanken (5, 49), manifestiert sich die Erkrankung nicht nur an den Gelenken, sondern bevorzugt auch an mechanisch beanspruchten Stellen der Haut, z. B. wo sie dem Knochen eng aufliegt. Das sind vor allem die Streckseiten der Unterarme in Nähe der Ellbogengelenke, über der Achillessehne und auf den Streckseiten der Finger. Manchmal sind diese sogenannten Rheumaknoten mit der Unterlage, Periost oder Sehnen, verbacken (81). Beteiligt sind oft Lungenparenchym, Pleura, Myokard, Perikard, Herzklappen, Peritoneum, selten Endokard und die Stimmbänder. Die Knoten sind häufig schmerzhaft und bleiben über Jahre hinweg erhalten. Histologisch finden sich Granulome mit zentraler Nekrose und einem palisadenartigen Wall von Epitheloidzellen. Die Peripherie ist mit Lympho-

zyten und Monozyten infiltriert (81). Die Pathogenese der Rheumagranulome ist noch weitgehend ungeklärt: Eine Hypothese geht davon aus, daß primär eine Nekrose des Bindegewebes sekundär zum Einstrom von Plasmabestandteilen und zur zellulären Demarkation der Nekrose führt. Eine andere besagt, daß ein primäres zelluläres Granulom um kollagene Fasern in einer sekundären nekrobiotischen Umwandlung mit Einstrom von Blutplasma zum typischen Rheumaknoten wird (168). Da Fibrinoid nicht nur reichlich Zelltrümmer enthält, sondern auch Bestandteile der Interzellularsubstanz des Bindegewebes (40), die antigen wirken können, wird ein immunpathologischer Mechanismus diskutiert. So wird ein Antikörper gegen denaturiertes Kollagen in 40 % bis 60 % der Patienten mit chronischer Polyarthritits gefunden, und oft lassen sich im Fibrinoid Immunkomplexe und ihre Bestandteile nachweisen (12). Bestätigt wird diese Annahme dadurch, daß fast alle Fälle von chronischer Polyarthritits mit Rheumaknoten seropositiv sind.

1.1.3. IMMUNOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN BEI CHRONISCHER POLYARTHRITIS

Heute besteht kein Zweifel mehr, daß es sich bei der c. P. um eine Erkrankung handelt, die unter wesentlicher Beteiligung des Immunsystems abläuft.

Ätiologische Theorien gehen von drei Voraussetzungen aus: Von einer genetischen Prädisposition des Organismus, einer krankhaften Immunant-

wort und einer Startreaktion. Diese drei Theorien scheinen nicht isoliert Gültigkeit zu haben, sondern alle drei tragen einer in komplexer Art und Weise entstehenden Krankheit bei. Wahrscheinlich ist auch die c. P. selbst keine nosologische Entität, sondern es kommen verschiedene Ursachen in Betracht und somit vielleicht unterschiedliche Mechanismen der Krankheitsentstehung, die alle gemeinsam in das Bild einer entzündlichen Gelenkerkrankung, der c. P., münden. Unter diesen Umständen und unter Berücksichtigung der Vielzahl von dokumentierten Veränderungen, die in einem dichten Netz miteinander verknüpft sind, einander bedingen, scheint das Mittel der Sprache mitunter ungeeignet, auch nur grobe Zusammenhänge darzustellen. Deshalb sei an dieser Stelle die graphische Synopse der vermutlichen Pathogenese der c. P. nach Müller (5) dargestellt.

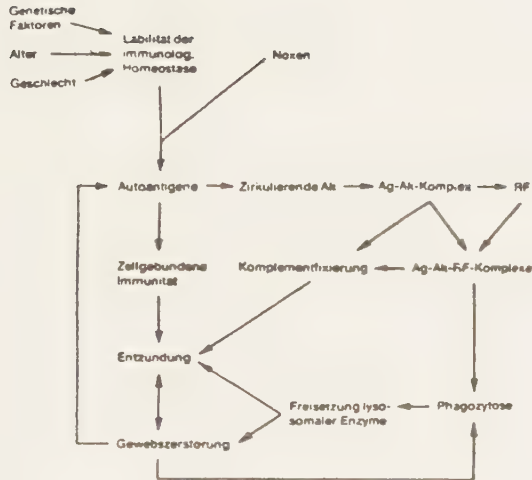


Abbildung 1: Pathogenese der c. P. nach Müller

Was sind nun diese einzelnen immunologischen Veränderungen? Der theoretische Ansatz, daß ein Start-Agnes von außen die Krankheit in Gang setzt, führte zu einigen interessanten Entdeckungen: So wurden z. B. in den Gelenken und im Stuhl von c. P.-Patienten häufiger als bei Gesunden diphteroide Stäbchen gefunden (182). Auch auf andere Mikroorganismen, die Mykoplasmen, richtet sich erhöhte Aufmerksamkeit, zu-

mal diese die Fähigkeit zur molekularen Mimikry besitzen, indem sie Antigene des Gastorganismus adsorbieren (58). Hier ergeben sich ganz deutliche Hinweise auf genetische und immunologische Krankheitsprozesse. Aber auch auf dem Gebiet der Virengenese der c. P. wird heute intensiv geforscht. Berichte über ein Interferenzphänomen zwischen RA-Zellen (Synovialiszellen von Polyarthritikern) und Rubella-Viren konnten allerdings nicht bestätigt werden (86, 149). Jedoch geht die Suche nach einer Expression neuer Antigene an RA-Zellen weiter (38), da man z.B. am C-oncornavirus-Modell gelernt hat, daß eine Infektion mit diesem Virus zu veränderten Zellantigenen führt. So konnte möglicherweise ein Synovialtypisches Protein (14, 22) definiert werden.

Bei der weiteren Suche nach immunologischen Befunden, die mit c. P. korreliert sind, stieß man bald darauf, daß ein bestimmtes "genetisches Make-up" mit dieser Krankheit assoziiert ist (7, 25, 26, 59, 83, 112, 113, 118, 123, 137, 158, 177, 178, 212): Es erwies sich, daß das Haptoglobulin Hp² (133), das α_1 -Antitrypsin MZ, SZ (50) und das Erythrozytenantigen P₁ mit der c. P. korreliert sind (20). Das Hauptaugenmerk jedoch viel auf die Gene des Haupthistokompatibilitätskomplexes auf dem Chromosom Nr. 6. Bei Patienten mit c. P. ist die Häufigkeit von

HLA - B	15	(20)
HLA - Bw	40	(136)
HLA - Cw	3	(136)
HLA - Dw	3	(141)
HLA - Dw	4	(179)
HLA - Drw	4	(141, 142, 177)

erhöht. Mit einem besonders hohen Rheumafaktortiter scheint HLA - Dw 3 korreliert zu sein. Der Einfluß des HLA-Systems wird durch mehrere Theorien erklärt: Die HLA-Genprodukte, also die HLA Antigene auf Gewebsstrukturen des Organismus, dienen möglicherweise als Rezeptoren für Viren. Beispiel ist das Semliki-Forest-Virus (95). Bei der immunologischen Überwachung durch T-Lymphozyten, die möglicherweise nur eine einzige Spezifität haben, nämlich "altered self", stellt der HLA-Komplex dann mit dem Antigen z. B. viralen Ursprungs ein Neoantigen dar (3, 16, 213). Beispiel ist das C-oncorina-Virus-Modell. Dadurch könnte es zu einer Immunreaktion gegen das Neoantigen und um Gefolge zu autoaggressiven Prozessen gegen die betroffenen Gewebsstrukturen kommen. Die molekulare Nachahmung durch Mykoplasmen wurde schon kurz erwähnt. Eine wichtige Rolle spielt das HLA-System bei der Interaktion von T-Lymphozyten, Makrophagen und B-Lymphozyten. Zur Immunantwort ist die Antigen-Präsentation zusammen mit dem richtigen HLA-Komplex nötig (69, 104, 107, 160, 214). Und schließlich besteht vielleicht ein Kopplungsgleichgewicht zwischen den eigentlichen Krankheitsempfänglichkeitsgenen und den Genen

des HLA-Systems. Die weitreichendsten und beeindruckendsten Veränderungen jedoch treten am Immunsystem selbst auf: Die aktivierten Synovialzellen selbst produzieren Kollagenase (205) und Plasminogenaktivator, und obwohl sie auch in erhöhtem Maße Prostaglandine herstellen (55), so sind sie doch gegen die Wachstumshemmung durch Prostaglandine resistent. Dies spricht entweder für eine Selektion prostaglandinresistenter Fibroblasten oder für den Verlust der Hemmung durch chronische Exposition (110). Daneben besteht ein Proliferationsreiz (35) durch Plättchenfaktor, Somatomedin und anderes mehr. Die Phagozytose von IgG, IgM und C₃ wird nachgewiesen (99, 108). Hinter den Randzellen finden sich massive mononukleäre Rundzellinfiltrate mit gelegentlich regelrechten Reaktionszentren. Dort vorkommende B-Lymphozyten sind verantwortlich für die Produktion von IgG, IgM und Rheumafaktoren (119). Selbst 50 % der Plasmazellen seronegativer Patienten enthalten Rheumafaktoren. Eine weitere Aufgabe der B-Lymphozyten ist die Präsentation von Antigen für die T-Lymphozyten in Verbindung mit dem richtigen HLA-Komplex.

Die entzündete Synovialis ist dicht infiltriert mit T-Lymphozyten (111, 192), die häufig in blastogener Transformation aktiviert sind (8, 109). T-Lymphozyten sind zytotoxisch, und zwar immunprotektiv wie auch immunpathologisch (41, 42, 98), sie sind entscheidend beteiligt an der T-Zell-vermittelten Entzündung (DTH-Reaktion), außerdem als Helfer- und Suppressorzellen für Proliferation und Antikörperproduktion der B-Lymphozyten verantwortlich (129, 185). Die Bedeutung der T-Lymphozyten für zellvermittelte

Immunprozesse ist enorm (175). Dies zeigt schon die Tatsache, daß eine Ductus-thoracicus-Drainage bei der c. P. als Therapie (114, 203) wirksam ist, wodurch ja vor allem T-Lymphozyten eliminiert werden, während Patienten mit einer Agammaglobulinämie sehr wohl ein c. P.-ähnliches Syndrom entwickeln können (9, 28, 85). Dies führte zu der Annahme, daß Antikörper weniger als Auslöser der Krankheit anzusehen sind, sondern vielmehr an der "Selfperpetuation", der Chronizität, beteiligt sind. Belege für die entscheidende Rolle der T-Lymphozyten sind auch die Wirksamkeit der immunmodulatorischen Substanz Leramisol (20, 128) und der erfolgreiche Transfer einer antigeninduzierten Arthritis durch immunisierte T-Zellen auf an sich genetisch resistente Mäuse (20, 145, 20). T-Zellen mit einer Aktivität gegen Kollagen werden bei den meisten Patienten gefunden (190). Häufig vorkommende Zellen in der entzündlich veränderten Synovialis sind Makrophagen, die über Lymphokine zytotoxisch wirken (43), und auf Kontakt mit Komplementspaltprodukten oder nach Komplementbindung lysosomale Enzyme (32), außerdem Kollagenase und Plasminogenaktivatoren freisetzen (194, 197), wenn sie durch T-Lymphozytenprodukte - Lymphokine - aktiviert werden. Synovialzellen stimulieren sie zur Kollagenase- und Prostaglandinsynthese (56), besonders in Zusammenarbeit mit T-Lymphozyten (54). Makrophagen von Polyarthritikern induzieren eine Gefäßproliferation (150) und aktivieren die Osteoklasten (97).

In der akuten Phase der Krankheit wandern aufgrund ihrer ausgeprägten

Chemotaxis (215) bis zu 10^9 Granulozyten am Tag in das Gelenkinnere ein (96). Eine Rückkehr in die Zirkulation ist nicht möglich, die Zellen bleiben gleichsam in der Synovia gefangen. Ein solches "trapping" wird nicht nur für Zellen, sondern auch für humorale Mediatoren, etwa Komplement, angenommen. Wenn die polymorphkernigen Granulozyten Immunkomplexe phagozytieren, so scheinen sie wie mit Trauben angefüllt, und man nennt sie dann Rhagozyten. Ein "Überfressen" führt zur Selbstzerstörung, zum Freisetzen von O^{2-} -Ionen und von lysosomalen Enzymen. Offensichtlich kann das Kupfer des Caeruloplasmins diese Selbstvergiftung limitieren. Weitere Enzyme der Granulozyten sind Kollagenase und Elastase, die zur Zerstörung des Knorpels beitragen (139). Bedeutende Veränderungen spielen sich bei der c. P. auch auf nicht zellulärem, humoralem Niveau ab. Auffällig sind besonders die "Rheumafaktoren", IgM-, IgG- oder IgA-Autoantikörper gegen den Fc-Anteil der IgG-Antikörper, die in 60 % bis 75 % der Patienten in der Synovialis nachgewiesen werden (130, 131, 132, 208) und, da sie an der "Selfperpetuation" beteiligt sind, zu einem schweren Krankheitsbild mit einer schlechteren Prognose führen (37). Diese Rheumafaktoren haben eine sehr starke Affinität zu veränderten Globulinen, die Antikörper oder Komplement gebunden haben. Häufig bilden sie sekundäre Immunkomplexe, d. h., sie sind gleichsam ihr eigenes Substrat (152), und sie haben die Fähigkeit zur Komplementbindung. Ein IgM-Rheumafaktor wird in den krankheitsspezifischen Lungenläsionen gefunden (60), 67 % der Patienten mit Vas-

kulitis haben einen IgG-Rheumafaktor. Beim Nachweis im Serum der Patienten spricht man von seropositiven Fällen. Die Bildung von Rheumafaktoren scheint an das Vorhandensein von Immunkomplexen und von durch Entzündungsprozesse verändertem, körpereigenem Material geknüpft zu sein (6).

Immunkomplexe sind, wenn sie im Blut vorliegen, bei Rheumakranken oft für ein Hyperviskositätssyndrom (101, 151) und für Kryoglobulinämie (204) verantwortlich. Sie kommen in der Synovia (94), der Synovialis (130), den Gefäßen der extraartikulären Läsionen (44, 74) und an der Oberfläche des Gelenkknorpels angelagert vor (45, 46, 140), wo sie zur Adhäsion von Granulozyten und wegen der Avaskularität des Knorpels zur zentripetalen Ausrichtung der Läsion führen. Bestandteile der Komplexe können Rheumafaktoren sein; eine Komplementaktivierung führt zu weiteren entzündlichen Reaktionen.

Die Komplemente spielen also eine wichtige Rolle als Entzündungsmediatoren beim Pathomechanismus der Krankheit. Das System wird außer von Immunkomplexen durch C-reaktive Protein aktiviert, das somit einen guten Marker für die Prozeßaktivität darstellt. Komplement beispielsweise findet sich in der Synovia (94) aber auch in der Synovialis (157), die die Fähigkeit hat, es selber zu produzieren (162). Die Komplementbindung an Makrophagen führt zur Freisetzung vasoaktiv und chemotaktisch wirksamer Spaltprodukte (18, 62, 201), die Granulozyten zum Einwandern und zum Freisetzen lysosomaler Enzyme veranlassen. Andere Entzündungsmedia-

toren bei der c. P. sind die Kinine (70, 127, 198). Sie sind ebenfalls vasoaktiv und chemotaktisch für Granulozyten und Monozyten, aktivieren Makrophagen, Osteoklasten und Synovialiszellen und wirken mitogen. Auch das Blutgerinnungssystem ist in die Krankheit mit einbezogen: Eine Akkumulation von Fibrin auf der Synovialis, auf Knorpel und in Gerinnseln in Synovia und in Synovialisinfarkten führt zu schweren Ernährungsstörungen und zur Chronizität der Erkrankung, wenn Immunkomplexe mit eingeschlossen werden (82, 193).

Zuletzt sollen noch kurz die bei der rheumatischen Entzündung freigesetzten Enzyme besprochen werden: Erhöhte Mengen vor allem lysosomaler Enzyme werden nachgewiesen - β -Galactosidase, β -Glucuronidase, N-Acetyl-Glucosaminidase, saure Osteoblastenphosphatase, Leucinaminopeptidase, Arylsulfatase A (102). Bei den lysosomalen Enzymen läßt sich eine für die c. P. typische Rückkopplung erkennen: Diese Proteasen führen zur Komplementaktivierung, dies wiederum zur Freisetzung lysosomaler Enzyme durch Granulozyten! Insbesondere die neutralen Metalloproteasen (170) verursachen Knorpelschäden (106) und veranlassen die Fibroblasten zur Kollagenasesynthese. Kollagenase ist besonders wirksam an der Kontaktstelle von Synovium bzw. Pannus mit Knorpel (210). Sie wird außer von Synovialiszellen (71) auch von Makrophagen (122) und Granulozyten synthetisiert. Unter normalen Umständen bilden Proteasen mit ihren Inhibitoren reversible Komplexe, wodurch die Entzündung limitiert wird. Bei der c. P. jedoch scheint das Verhältnis Proteasen zu Inhibitoren

gestört (90), die Hemmung durch α_1 -Antitrypsin, α_2 -Makroglobulin (138) und β_1 -Antikollagenase (211) durch einen Überschuß von Proteasen aufgehoben. So lassen sich die Befunde, daß sowohl erhöhte (21, 216), als häufig auch erniedrigte (24) Inhibitorenspiegel in der Synovia gefunden werden, verstehen.

1.2. ZIELE DER VORLIEGENDEN UNTERSUCHUNG

Sowohl das menschliche Leid, das durch die c. P. hervorgerufen wird, als auch der Beitrag, den die Gesellschaft, die Solidargemeinschaft der Versicherten, zur Versorgung der Erkrankten aufwenden muß, ist immens. Da nun die Ätiologie noch weitgehend unbekannt ist, scheint der hohe Aufwand an Mitteln, die zur Erforschung der Ursachen weltweit aufgewendet werden, durchaus gerechtfertigt. Eine genaue Kenntnis des Mechanismus der c. P.-Entstehung könnte Grundlage einer kausalen Therapie oder Prophylaxe werden, könnte großen Einfluß auf die Diagnostik haben, z. B. in der Abschätzung von Risikofaktoren, oder der Entwicklung von Screening-Methoden, so die Kosten der entsprechenden Tests nur gering genug gehalten werden, und sie wirkt wohl auch fort auf Verständnis und Behandlung weiterer Immunkrankheiten, wie z. B. den Lupus erythematoses oder die Immunthyreoiditis.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, inwieweit bestimmte immunfunktionelle und immungenetische Parameter bei Patienten mit c. P.

und Rheumaknoten von einem Normalprobandenkollektiv und einem Rheumatikergesamtkollektiv abweichen, gegebenenfalls die c. P. mit Rheumaknoten als nosologische Entität charakterisieren.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. PROBANDEN

Lymphozyten von 234 Patienten unserer Rheumaambulanz, die entsprechend den New York-Kriterien an einer gesicherten chronischen Polyarthritis litten, wurden immunfunktionell (Mitogen- und Antigenstimulation, Suppressorzellaktivität) untersucht. Die HLA-A, -B und C-Antigene wurden simultan bestimmt. Von 234 Patienten im Alter von 18 bis 76 Jahren (Altersmittelwert 47 a, SD = 16,2 a) waren 29 % Männer und 71 % Frauen. Zum Untersuchungszeitpunkt erhielten 79 Patienten eine krankheitsspezifische Therapie mit Medikamenten, die entsprechend der Literatur (143, 115) die Lymphozytenfunktion in vitro nicht beeinträchtigen. Die übrigen 155 Patienten waren zum Untersuchungszeitpunkt untherapiert.

Aus diesem Rheumatikergesamtkollektiv wurde eine Rheumaknotengruppe selektiert, die aus 30 Patienten mit der gesicherten Diagnose bestand. Bei dieser Gruppe waren 77 % der Patienten Frauen, das Alter der Patienten reichte von 27 bis zu 68 Jahren (Altersmittelwert 44,5 a, SD 12,5 a). Von diesen 30 Patienten waren 8 therapiert.

Als Vergleichskollektiv dienten 98 gesunde Probanden, Blutspender im Alter von 17 bis 57 Jahren (Altersmittelwert 37,0 a, SD 9, 4 a), davon waren 62 % Frauen und 38 % Männer. Es wurden analoge immunkinetische und - genetische Untersuchungen durchgeführt. Die Blutentnahmen erfolgten jeweils unter sterilen Kriterien mit heparinisierten Einmalspritzen (1 ml = 5000 IE Heparin auf 100 ml Blut).

2.2. HLA-SYSTEM

2.2.1. ALLGEMEINES

Erstmals 1954 beschrieb Dausset (52) Antikörper im Serum polytransfundierter Patienten, die gegen Leukozyten einzelner Blutspender reagierten, 1958 definierte er "MAC" - heute HLA-A2 genannt (51). Dieses System der "human Leucozyte Antigens", kurz HLA kommt wahrscheinlich auf der Oberfläche aller kernhaltigen Zellen des menschlichen Organismus vor und spielt eine entscheidende Rolle bei der Erkennung von "fremd" und "selbst" durch das Immunsystem.

Heute kann man fünf verschiedene Serien von HLA-Antigenen unterscheiden. Serologisch werden HLA-A, -B und -C definiert, wobei vor allem die Entwicklung des Mikrozytotoxizitätstest durch Terasaki (186) bedeutende Fortschritte brachte. Die Antigene der D-Gruppe werden vorzugsweise durch die gemischte Lymphozytenreaktion nachgewiesen, die zuerst auf B-Zellen entdeckten Dr-Antigene (17) serologisch.

Die Loci der für das HLA-System kodierenden Gene zeigt Abbildung 2:

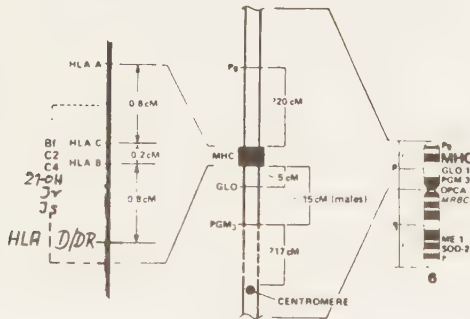


Abbildung 2: Genloci des HLA-Systems auf dem 6. Chromosom des Menschen
nach Mc Kusick (116)

- cM = Centi Morgan (% Rekombiantionshäufigkeit)
- Pg = Pepsinogen
- MHC = Major Histocompatibility Complex
- GLO 1 = Glyoxulase 1
- PGM 3 = Phosphoglukomutase 3
- Bf = C₃-Proaktivator
- C₂, C₄ = Komplementfaktoren
- Jr = Gene f. Immunantwort
- Js = Gene f. Immunsuppression
- 21-OH = 21 Hydroxylase

Die Vererbung des Systems erfolgt kombinant nach den Mendelschen Regeln.

2.2.2. VERWENDETE REAGENZIEN

1) Heparin - Natrium: 25.000 IE / 5 ml

(B. Braun Melsungen AG)

2) McCoy's 5_A-Medium: mit 10 % Fetal calf serum und mit L-Glutamin

(Gibco Europe, Glasgow, Schottland)

3) HLA - Antiseren

(Biotest Seruminstitut, Frankfurt, Behringwerke AG, Marburg)

4) Kaninchen - Komplement ORAX 14/15

(Behringwerke AG, Marburg)

5) EOSIN: 5 %ige Lösung in Aqua dest., filtriert - Art. Nr. 1345

(Merck, Darmstadt)

6) Mikrotiterplatten 96 F

(Nunc Intermed, Roskilde, Dänemark)

2.2.3. TECHNIK

HLA-A, -B und -C sind serologisch definierte Antigene. Die Ansätze werden nach dem Mikrototoxizitätstest nach Terasaki (186) durchgeführt. Dieser basiert darauf, daß die Zellmembranen der Lymphozyten, die das zu testende Antigen aufweisen, durch die in den spezifischen Antiseren enthaltenen Antikörper in Verbindung mit Komplement zerstört werden. Während Lymphozyten mit intakter Zellmembran sich mit Eosin nicht anfärben, wird der Farbstoff in lysierten Zellen sehr wohl angereichert. Färbung bedeutet somit, daß die entsprechende Probe HLA- x positiv ist.

Untersuchungsmaterial waren 10 ml Heparinblut je Proband (0,1 ml Heparin + 9,9 ml Blut). Die aus dem peripheren Blut separierten Lymphozyten (Methode unter 2.3.3., Gewinnung der Lymphozyten) wurden in 1 ml McCoy's Medium aufgeschwemmt, anschließend gezählt und auf 4×10^6 Lymphozyten/ml Medium eingestellt. (siehe 2.3.3., Lymphozytengewinnung). Für die weitere Typisierung wurden die Mikrotiterplatten benutzt. Wir beschickten für eine Blutprobe je 4 Näpfe mit jeweils 1 μ l eines bestimmten Antiserums zusammen mit 5 μ l Paraffin - insgesamt 264 Näpfe pro Blutprobe.

Nachdem wir jedem Napf ca. 2000 bis 4000 Lymphozyten, suspendiert in 1 μ l Medium, beigegeben hatten, wurden die Platten für 60 Minuten bei 20° C inkubiert. Um den bei der Zytolyse auftretenden Komplementver-

verbrauch auszugleichen, wurde in jeden Napf 5 μ l Kaninchenkomplement gegeben. Nach weiteren 90 Minuten erfolgte die Zugabe von je 4 μ l unserer Eosinlösung, 15 Minuten später wurde die Antigen-Antikörperreaktion gestoppt und die Zellen fixiert. Verwendet wurden dazu je 10 μ l 37 %iges Formalin, das mit NaOH auf den pH-Wert von 7,25 eingestellt worden ist. Nach Formalinzugabe wurden die Platten mit Deckgläsern vor Verdunstung geschützt.

Nach einigen Stunden konnte die Auswertung beginnen. Gewertet wurde der Prozentsatz lysierter und daher mit Eosin angefärbter Lymphozyten, die größer als intakte Lymphozyten sind, unscharf begrenzt und dunkel verfärbt. Die gefundenen Reaktionsstärken werden in vorgedruckte Antikörperlisten eingetragen. Dabei gilt:

Reaktionsstärke 1 = 0 - 10 % zerstörter Zellen = negativer Befund

Reaktionsstärke 2 = 10 - 20 % zerstörter Zellen = negativer Befund

Reaktionsstärke 4 = 40 - 60 % zerstörter Zellen = fraglicher Befund

Reaktionsstärke 6 = 60 - 80 % zerstörter Zellen = positiver Befund

Reaktionsstärke 8 = 80 -100 % zerstörter Zellen = positiver Befund

Wenn in 4 mit vom Typ her identischen Antigen-Antikörpermischungen beschickten Nöpfen eine Reaktion-Stärke 6 - 8 stattgefunden hatte, wurde das Vorliegen des entsprechenden HLA-Antigens auf der Lymphozytenoberfläche angenommen.

2.3. LYPHOZYTENKINETIK

2.3.1. ALLGEMEINES

Während der letzten Jahre wurde Schritt um Schritt aufgedeckt, wie vielfältig humorale und zelluläre Immunmechanismen ineinandergreifen. So wurde zuerst eine dichotome Aufteilung der Lymphozyten in Thymus-abhängige, zytotoxische und in Bursa-Äquivalent-abhängige antikörperproduzierende Lymphozyten postuliert (47, 48, 184), später konnten weitere Lymphozytensubpopulationen definiert werden:

T-Helferzellen: An Mäusen wurde gezeigt, daß antikörperproduzierende B-Zellen nur in Gegenwart von T-Zellen adäquat auf bestimmte Antigenstimuli mit Proliferation und Differentiation antworten können (39, 124). Zu dieser Helfer-Zellpopulation gehören auch die für die DTH-Reaktion (Delayed Type Hypersensitivity) verantwortlicher T-Zellen (130), die ebenso auf Antigenstimulation reagieren. Die DTH-Reaktion ist bei Polyarthritikern stark herabgesetzt (15, 202). Zytotoxische Zellen bedürfen der Unterstützung von Helferzellen, um ihren Aufgaben gerecht zu werden (29,31). In der MLC (mixed lymphocyte culture) sind B-Lymphozyten die primären Auslöser einer durch nicht übereinstimmende HLA-D-Antigene ausgelösten Proliferation von Responder-T-Helferzellen.

T-Suppressorzellen: Ihre Funktion ist den Helferzellen entgegengerichtet, sie unterdrücken die Proliferation von B-Zellen in antikörperproduzierende Zellen und von T-Vorläufern in T-Effektoren (178). Mit ihnen läßt sich Immuntoleranz für ein bestimmtes Antigen auf immunkompetente Individuen übertragen, wobei diese weiter ganz normal mit Antikörperbildung auf alle anderen Antigene reagieren. Bei Patienten mit Agammaglobulinaemie scheinen sie die B-Zellproliferation auf Stimulation mit Mitogenen zu supprimieren (200). In der MLC kann diese Subpopulation die in vitro-Proliferation von T-Helferzellen hemmen.

Schließlich können ca. 10 % der Lymphozyten keinen dieser Gruppen zugeordnet werden: man nennt sie daher Null-Lymphozyten. Sie besitzen zytotoxische Eigenschaften, aktive Nullzellen werden Killerzellen genannt. Natural Killer Cells haben ihre besondere Aufgabe in der Elimination transformierter Zellen.

Antigene nun sind Stoffe, die aufgrund des molekularen räumlichen Aufbaus der jeweiligen Substanz (Tertiär- oder sogar Quartärstruktur!) einen spezifischen Reiz für das Immunsystem darstellen und es zur Antikörpersynthese oder zellulären Reaktionen stimulieren. Dagegen werden die Veränderungen, die durch Mitogene, nämlich pflanzliche Lectine oder Polysaccharide von Bakterien, induziert sind, vielfach als unspezifisch angesehen (171). Durch Exposition von Lymphozyten gegen Mitogene und Antigene wird deren Reaktionsfähigkeit getestet (163).

Im Antigensatz kommen

mit Varidase (einem

streptokokken Antigen)

Lymphozyten insgesamt (87, 149, 187),

mit Tetanustoxoid

T-Zellen (23),

mit Diphterietoxoid

T- und B-Zellen (117),

mit Tuberculin

T-Zellen (68),

mit Vaccinia

T-Zellen (61),

mit Masern

T-Zellen (161),

mit Rubella

T-Zellen (147) und mit einem

viralen AG-Cocktail

T-Zellen zur Stimulation.

Erhöhte Lymphoblastopoese zeigen im Mitogensatz

mit Protein A (von

Staphylococcus aureus)

T- und B-Zellen (165),

mit Concanavalin A vorzugsweise

T-Suppressorzellen (126, 146, 155, 156, 172)

mit Phytohämagglutinin vor-

zugsweise

T-Helferzellen (64, 73, 135, 154, 207) und

mit Pokeweed-Mitogen

B-Zellen (64).

Im Suppressorzellansatz (126, 136, 146, 153, 172) kann spezifisch die

Suppressorzellaktivität getestet werden. Die Versuchsanordnung nutzt die

Stimulierbarkeit von Suppressorzellen (B) durch Concanavalin A aus. Nach-

dem sie bestrahlt worden sind, kommen sie mit nicht bestrahlten Responder-

zellen (A) der selben Blutprobe zur Inkubation. Um diese zu stimulieren, werden entweder Mitogene (M) oder bestrahlte allogene Stimulatorzellen (S) zugesetzt (b_1). Als Kontrollen fungieren jeweils sog. Bystander, die ebenso vom selber Spender stammen, bestrahlt, jedoch nicht mit Concanavalin A vorbehandelt sind (a_1). Die Ergebnisse müssen noch um die Leerweite (b_2 , a_2) korrigiert werden. Eine anschauliche Darstellung gibt Abbildung 3:

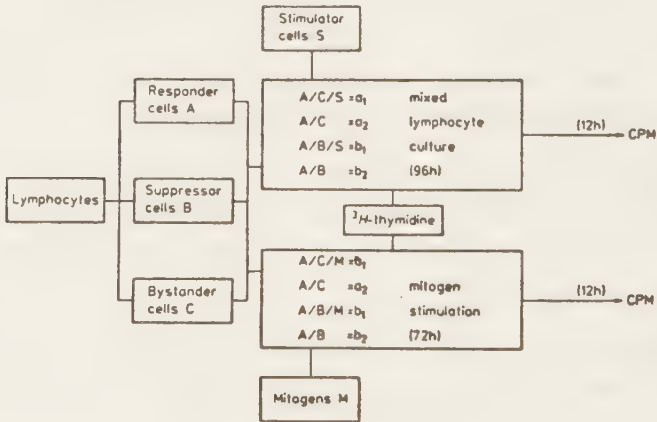


Abbildung 3: Suppressorzelltest nach Eckstein, Mempel, Hein und Bolte (66). Erklärung siehe Text

Weitere Angaben erfolgen im Abschnitt Suppressorzellenansatz (2.3.4.2)!

2.3.2. VERWENDETE REAGENZIEN

- 1) Heparin-Natrium: 25.000 IE / 5 ml
(B. Braun Melsungen AG)
- 2) Ficoll-Isopaque-Lösung: (d = 1,077)
(Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden)
- 3) Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS): (pH 7,2)
(Apotheke der Klinischen Universitätsanstalten München)
- 4) Kulturmedium RPMI 1640: mit 25 mM HEPES-Puffer
(Gibco Europe, Glasgow, Scotland)
- 5) Penicilline-Streptomycin-solution: (10.000 units / ml)
(Gibco Europe, Glasgow, Scotland)
- 6) L-Glutamins (200 mM)
(Gibco Europe, Glasgow, Scotland)
- 7) Humanes AB-Serum
(BRK, Blutspendezentrale München)

- 8) Mikrotiterplatten: (60 x 10 μ l)
(Nunc Intermed, Roskilde, Dänemark)
- 9) Protein A (Prot. A)
(Sigma Chemie, München)
- 10) Concanavalin A (Con A)
(Sigma Chemie, München)
- 11) Phytohämagglutinin (PHA)
(Wellcome, Dartford, England)
- 12) Pokeweed-Mitogen (PWM)
(Gibco Europe, Glasgow, Scotland)
- 13) Varidase: 125.000 IE Fibrinolytikum
(Lederle, Wolfratshausen)
- 14) Tetanustoxoid: (2600 LF / ml)
(Behringwerke AG, Marburg)
- 15) Diphterietoxoid: (2290 LF / ml)
(Behringwerke AG, Marburg)

- 16) Tuberculin GT 1: (1 IE / 0,1 ml)
- 17) Tuberculin GT 10: (10 IE / 0,1 ml)
(Behringwerke AG, Marburg)
- 18) Vaccinia-Antigen:
(Behringwerke AG, Marburg)
- 19) Masern-Antigen für die KBR OTIO 04/05
(Behringwerke AG, Marburg)
- 20) Röteln-Antigen für die KBR: ORBI 04/05
(Behringwerke AG, Marburg)
- 21) Antigen-Cocktail: (O.P. - Nr. 13)
(Behringwerke AG, Marburg)
- 22) ³H Thymidine-solution:
(Amersham international, Amersham, England)
- 23) Szintillationsmischung: (6 g PPO, 10 mg POPOP, 1 l Toluol)
(Carl Roth KG, Karlsruhe)
- 24) Zählfläschchen für die Flüssig-Szintillation
(Zinsser Analytic, Frankfurt)

2.3.3. GEWINNUNG DER LYMPHOZYTEN

Untersuchungsmaterial waren 100 ml steriles Heparinblut pro Proband. Es kam die Methode nach Boyum (19) zur Anwendung: In 50 ml Zentrifugenröhrchen wurden 1/3 Ficoll-Isopaque mit 2/3 Blut überschichtet und 20 Minuten bei 2000 U/min. bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Die über den Dichtegradienten gewonnene Suspension mononukleärer Zellen - sie setzen sich als Ring zwischen Ficoll-Isopaque und Serum ab - wurde in Zentrifugenröhrchen gesammelt, im Verhältnis 2 : 1 mit phosphatgepufferter NaCl-Lösung versetzt und nochmals 10 Minuten bei Zimmertemperatur mit einer Drehzahl von 1500 U/min. zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, die Zellen wieder in PBS aufgeschwemmt und der Waschvorgang noch zweimal wiederholt.

Schließlich wurden die Zellen in RPMI-1640-Kulturmedium mit HEPES-Puffer supplementiert mit 1 % Penicillin-Streptomycin, 1 % L-Glutamin und 20 % humanem AB-Serum aufgeschwemmt. Das Lymphozyten / Monozytenverhältnis dieser Suspension betrug bei allen untersuchten Probanden näherungsweise 4 : 1.

Zunächst mußte festgestellt werden, wieviel Lymphozyten sich in der gewonnenen Suspension befanden. Dazu verdünnten wir 1 Teil Lymphozytensuspension (0,5 Teilstriche auf der benutzten Leukozytenpipette) mit 21 Teilen 1 %iger Essigsäure (Flüssigkeitsstand auf

Teilstich 11 der Pipette). Nachdem die Pipette drei Minuten auf dem elektrischen Rüttler geschüttelt wurde, verwarfen wir die unteren 0,5 Einheiten des Inhalts, der hier immer noch im Wesentlichen nur aus Essigsäure bestand. Somit erhielten wir eine 20-fache Verdünnung. Dann brachten wir von der in der Leukozytenpipette befindlichen Flüssigkeit jeweils einen Tropfen auf die beiden freien Enden des mittleren Balkens einer vorbereiteten Neubauerzählkammer und ermittelten am Mikroskop im Dunkelfeld mit einem 40er Objektiv unter Benutzung einer Zähluhr die Lymphozytenzahl.

Bei der Zähltechnik in der Neubauerkammer verfahren wir wie folgt: Wir gingen meanderartig durch die Felderflächen der Kammer und zählten die Lymphozyten in vier Felderflächen aus, und zwar jeweils in zwei einander diagonal gegenüberliegenden Felderflächen auf beiden Seiten des horizontalen Mittelbalkens. Aus diesen errechneten wir den Mittelwert. Da eine Felderfläche ein Volumen von $0,1 \text{ mm}^3$ hat, läßt sich die Lymphozytenzahl für 1 mm^3 oder 1 ml ($=10^3 \text{ mm}^3$) leicht errechnen. In der unverdünnten Suspension befindet sich dann rückgerechnet eine 20-fach höhere Lymphozytenkonzentration: Allgemein gilt also für die Errechnung der Lymphozytenzahl in 1 ml Lymphozytenkonzentration aus der in der Neubauerkammer ermittelten Lymphozytenzahl folgende mathematische Formel.

$$\begin{aligned} & \text{Lymphozytenzahl in } 0,1 \text{ mm}^3 \times 10 (= 1 \text{ mm}^3) \times \\ & \times 20 (= \text{Verdünnung}) \times 1000 (= 1 \text{ cm}^3) = \\ & = \text{Lymphozytenzahl in } 1 \text{ ml Lymphozytenkonzentrat} \end{aligned}$$

Die benötigte Lymphozytenzahl (20×10^6) konnte also nun leicht aus der Suspension entnommen werden und mit Kulturmedium auf 10 ml gestreckt werden.

2.3.4. KULTURVERFAHREN

2.3.4.1. MITOGEN- UND ANTIGENKULTUREN

Die 14 verschiedenen Mitogene und Antigene und jeweils eine Nullkontrolle wurden auf Mikrotiterplatten getestet. Da jeder Ansatz sechsfach erstellt wurde, waren insgesamt also $16 \times 6 = 96$ Plattennäpfe mit je 0,1 Mio. Lymphozyten zu beschicken. Für die somit benötigte Zellzahl von 9,6 Mio. wurde unsere Zellsuspension nochmals mit Kulturmedium verdünnt und auf 10 Mio./10 ml eingestellt. Jeder Napf erhielt 100 μ l Medium, (entsprechend 0,1 Mio. Lymphozyten), je sechs Näpfe wurden gegen die folgenden Endkonzentrationen der verschiedenen Mitogene getestet:

Protein A	12,5 μ g
Concanavalin A	25 μ g
Concanavalin A	12,5 μ g
Pokeweed Mitogen (PWM)	2,5 μ g
Phytohämagglutinin (PHA)	1 μ g,

außerdem gegen die Endverdünnungen der vom Hersteller angegebenen Stammlösungen mehrerer bakterieller Antigene:

Varidase	2 μ l
Tetanustoxoid	2,5 μ l
Diphtherietoxoid	2,5 μ l
Tuberculin GT 1	1 μ l
Tuberculin GT 10	0,5 μ l

und viraler Antigene:

Masernantigen	0,5 μ l
Vacciniaantigen	0,5 μ l
Rötelnantigen	16 μ l
AG-Cocktail	2,75 μ l

Die Platten wurden mit selbstklebender Plastikfolie verschlossen, Mitogenansätze kamen für drei Tage, Antigenansätze für sechs Tage bei 37° C in einen Brutschrank, der eine feuchte 5 %ige CO₂-Atmosphäre aufrechterhielt.

2.3.4.2. SUPPRESSORZELLANSATZ

Dem Verständnis des Testansatzes für Suppressorzellen ist Abbildung 3 sehr dienlich! Es wurde eine Lymphozytensuspension in Kulturmedium mit einer Konzentration von 10. Mio. Zellen/ml (10-fach höher als im Antigen/Mitogen-Ansatz!) eingestellt. Die Induktion von Suppressorzellaktivität erfolgte durch Zugabe von 150 mg Concanavalin A zu 1 ml Zellsuspension, die Menge der Flüssigkeit wurde mit Kulturmedium auf 2,5 ml gestreckt. Somit waren 4 Mio. Zellen/ml im Ansatz enthalten. Bis zum Versuchsbeginn wurden die Suppressorzellen für 48 Stunden in einer feuchten, 37° C warmen CO₂-Atmosphäre, inkubiert.

Die zur Konstanthaltung der Zellzahl in den Kontrollansätzen benötigten Bystanderzellen wurden nicht mit Concanavalin A inkubiert, außerdem sofort auf eine Konzentration von 2 Mio. Zellen/ml eingestellt, die als Responderzellen vorgesehenen Lymphozyten waren bis zum Versuchsbeginn unter flüssigem Stickstoff gelagert. Zur Stimulation der Responderzellen verfügten wir über einen ebenfalls tiefgefrorenen Lymphozytenpool von fünf gesunden, unverwandten, HLA-D-differenten Spendern, außerdem fanden die Mitogene Protein A, PWM und PHA in den bereits angegebenen Konzentrationen Verwendung. Im Folgenden arbeiten wir nach einer Modifikation des Assays (65, 66, 156, 172).

Nach zwei Tagen wurde die Suppressorzellaktivität getestet. Dazu tauchten wir Responderzellen und Stimulatorzellen-Pool auf Eis auf, die halbaufgetauten Zellen wurden in Röhrchen gegeben, diese mit AB-Serum aufgefüllt. Die Bystanderzellen zentrifugierten wir einmal ab und stellten sie mit dem Kulturmedium auf 0,5 Mio. Zellen/ml ein, ebenso die mit Concanavalin A behandelten Zellen, nur daß diese dreimal mit PBS gewaschen wurden, und die Zellen des Pools. Zur Hemmung der Proliferationsaktivitäten von Suppressor-, Bystander- und Stimulatorzellen setzten wir diese der Strahlung einer Cs-137-Quelle (Wählschmiller, Markdorf/Bodensee) von 40 Gy aus. Nun war sichergestellt, daß wir von Bystander- und Stimulatorzellen keinen Einbau von 3H-Thymidin zu messen bekommen würden, während der durch die Bestrahlung nicht gänzlich zu verhindernde 3H-Thymidin Einbau durch Concanavalin A-aktivierte Suppressorzellen durch Einführung der Kontrolle Responder/Suppressorzellen (b_2) ohne Stimulation weitgehend eliminiert wird (s. 2.4. statistische Methoden;). Dies vermeidet falschnegative Resultate (65).

In der gemischten Lymphozytenkultur stimulieren wir auf Mikrotiterplatten in je 200 μ l Kulturmedium 5×10^4 Responderzellen durch 5×10^4 Stimulatorzellen in Gegenwart von 5×10^4 Suppressorzellen (b_1) oder Bystanderzellen (a_1), indem wir Responderzellen mit Bystander- bzw. Suppressorzellen mischten und 200 μ l dieser Zellsuspension mit 100 μ l der Stimulatorzellsuspension oder als Kontrolle mit Kultur-

medium (a_2 , b_2) in je einen Napf gaben. Die Ansätze verblieben sechs Tage bei 37°C in einer feuchten CO_2 -Atmosphäre. (Abbildung 3)

In separaten Experimenten wurden 5×10^4 Responderzellen in Gegenwart von 50.000 Suppressorzellen (b_1) oder Bystanderzellen (a_1) durch die Mitogene Protein A, Concanavalin A, PWM und PHA in den gegebenen Konzentrationen drei Tage stimuliert. Auch hier wurden Kontrollen gegen das Medium mitgeführt (b_2 , a_2). Alle Ansätze erfolgten sechsfach.

2.3.5. MARKIERUNGSVERFAHREN

Die Quantifizierung der Blastenbildung geschah durch Messung des Einbaus von radioaktivem Thymidin. Die Ernte der Mitogenkulturen erfolgte am dritten Tag, somit die Zugabe von 3H Thymidin ($20\text{ }\mu\text{l}$ pro Napf entsprechen $2\text{ }\mu\text{Ci}$) 48 h nach Kulturansatz. Die Ernte der Antigenkulturen und der MLC-s wurde am sechsten Tag nach Kulturansatz durchgeführt, die 3H Thymidin-Zugabe entsprechend am fünften Tag.

2.3.6. ERNTE- UND SZINTILLATIONSVERFAHREN

Zur Vereinheitlichung der Versuchsanordnung wurden die Platten am dritten bzw. sechsten Tag bei -80°C eingefroren und nach dem Auftauen zu einem späteren Termin geerntet. Dazu sammelten wir die Kulturzellen mit der "Entemaschine" nach Hartzmann und Bach und brachten sie auf Glasfaser-

filter. Für jede Kulturplattenreihe mit 12 Nöpfen sollten dabei 200 ml Wasser verwendet werden. Die Glasfaserfilter wurden auf einer heizbaren Platte getrocknet und schließlich in Zählbehälter gebracht. Nach Zugabe von 5 ml Szintillationsflüssigkeit (Toluol) verschraubten wir diese Behälter locker und brachten sie entsprechend dem Ernteschema in einen Beta-Counter, der die in die gebildeten Blasten eingebaute Radioaktivität in cpm mißt. Von den im Counter gefundenen sechs zusammengehörigen Werten berechneten wir das arithmetische Mittel in cpm. Anhand der Blastenbildung konnte dann die Immunitätslage des Probanden bezüglich seiner lymphatischen Zellen beurteilt werden.

2.4. STATISTISCHE METHODEN

Diese Mittelwerte (counts per minute = cpm) benutzten wir zur Berechnung des prozentualen Suppressions-Grades der Responderzellblastopoese durch Concanavalin A - aktivierte Lymphozyten in den Suppressorzellansätzen entsprechend der Formel (65):

(Vergleiche auch Abbildung 3)

$$\text{Suppression (\%)} = 1 - \frac{b_1 - b_2}{a_1 - a_2} \times 100$$

Wir sind von der Überlegung ausgegangen, daß eine biologische Funktion wie die Suppressorzellaktivität kein negatives Vorzeichen haben kann. Deshalb wurden rechnerisch negative Suppressionswerte gleich 0 % gesetzt (65, 66).

Die Daten von Antigen-, Mitogen- und Suppressorzellansatz wurden im T-Test für unverbundene Stichproben bei ungleicher Varianz getestet. Der Test dient dazu, festzustellen, ob sich die Mittelwerte der Grundgesamtheiten zweier Stichproben signifikant unterscheiden (153). Geringere Signifikanz bedeutet höhere Irrtumswahrscheinlichkeit und Wahrscheinlichkeit für Fehler 1. Art und 2. Art.

Die Anteile bestimmter HLA-x-Phänotypen wurden in Prozent der Grundgesamtheit angegeben. Das relative Risiko (rR) eines Probanden mit einem Phänotyp HLA-x, an einem mit diesem Phänotypassozierten Leiden zu erkranken, errechnet sich nach folgender Formel (84):

$$rR = \frac{n \text{ HLA-x positive Patienten} \times n \text{ HLA-x negative Normalprobanden}}{n \text{ HLA-x positive Normalprobanden} \times n \text{ HLA-x negative Patienten}}$$

Das relative Risiko kann hier als Maß für die Stärke der Assoziation von HLA-Typ und Krankheit angesehen werden. Ab einem $rR > 1$ ist eine positive Assoziation gegeben, bei einem $rR > 2$ ist es sinnvoll, von biologischer Signifikanz zu sprechen. Ist der Wert für das $rR < 1$, so besteht in diesem Fall eine negative Assoziation.

3. E R G E B N I S S E

3.1. CHRONISCHE POLYARTHRITIS, GESAMTKOLLEKTIV

Bei unseren Untersuchungen kamen wir zu folgenden Ergebnissen:

Keine statistisch signifikanten Unterschiede fanden sich zwischen Normal-Probanden-Kollektiv und c. P.-Gesamtkollektiv bei folgenden Parametern:

- Suppressorzellaktivität Protein A	mit	$p < 0,5$
- Suppressorzellaktivität PWM		$p < 0,25$
- Suppressorzellaktivität PHA		$p < 0,3$
- Mitogen	Con A 25 μ g	$p < 0,25$
- Mitogen	Con A 12,5 μ g	$p < 0,3$
- Mitogen	PHA	$p < 0,2$
- Varidase		$p < 0,1$
- Diphtherietoxoid		$p < 0,2$
- Vacciniaantigen		$p < 0,5$

Dagegen sind auf dem 5 % - Niveau ($p < 0,05$) folgende Parameter signifikant:

- Tuberculin GT 1 $p < 0,0125$
- Tuberculin GT 10 $p < 0,05$
- Rubellaantigen $p < 0,025$
- Antigen-Cocktail $p < 0,05$

(siehe Abbildung 4 - 9)

Statistisch hochsignifikante Unterschiede ($p < 0,01$; 1 % Niveau) ergaben sich bei:

- Mitogen PWM mit $p < 0,0025$
- Tetanustoxoid $p < 0,005$

(siehe Abbildung 10, 11)

Statistisch höchstsignifikante Unterschiede ($p < 0,001$; 1 % Niveau) bei:

- Suppressorzellaktivität MLC mit $p < 0,0005$
- Mitogen Protein A $p < 0,0005$
- Masernantigen $p < 0,0005$

(siehe Abbildungen 12 - 14)

Von unseren 234 Patienten mit gesicherter Polyarthritidis wurde an 171 das HLA-System bezüglich A-, B- und C-Loci bestimmt. Aufgrund dieser Ergebnisse ist es möglich, für Individuen die Stärke einzelner HLA-Assoziationen mit der c. P. zu bestimmen, indem man für jedes in Frage kommende HLA-Gen das relative Risiko (rR) berechnet, das besagt, um wieviel die statistische Wahrscheinlichkeit bei einem Individuum mit einem bestimmten HLA-Antigen größer ist an chronischer Polyarthritidis zu erkranken, als dies bei

Individuen der Fall wäre, die das entsprechende HLA-Antigen nicht besitzen. Das relative Risiko kann als Maß für die biologische Signifikanz angesehen werden. Es errechnet sich nach der Formel:

$$rR = \frac{a \times b'}{b \times a'}$$

Dabei bedeuten: a : Anzahl der HLA-x positiven Patienten

a' : Anzahl der HLA-x negativen Patienten

b : Anzahl der HLA-x positiven Normalprobanden

b' : Anzahl der HLA-x negativen Normalprobanden.

Wir haben unsere Ergebnisse in Tabellen zusammengestellt, in denen die Häufigkeit des Vorkommens der einzelnen HLA-Gene für die Normalprobanden und das c. P.-Gesamtkollektiv sowie das sich daraus ergebende relative Risiko gegenübergestellt sind:

Tabelle 1: HLA-A - System

HLA-A	Kontrollgruppe (n = 100)	c. P.-Gruppe (n = 171)	rR
A 1	26 %	27,5 %	1,08
A 2	44 %	52,0 %	1,38
A 3	31 %	22,2 %	0,64
A 9	19 %	20,5 %	1,10
A 10	8 %	7,0 %	0,87
A 11	11 %	9,9 %	0,89
A 28	5 %	5,3 %	1,06
A 29	8 %	5,3 %	0,64
Aw 30+31	4 %	3,5 %	0,87

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, steigt bei keinem HLA-A Gen der Wert des relativen Risikos über 2 an.

Tabelle 2: HLA-B - System

HLA-B	Kontrollgruppe (n = 100)	c.P.-Gruppe (n= 171)	rR
B 5	14 %	9,9 %	0,68
B 7	27 %	19,9 %	0,67
B 8	14 %	23,4 %	1,88
B 12	23 %	16,4 %	0,66
B 13	6 %	2,9 %	0,47
B 14	6 %	4,7 %	0,77
B 15	9 %	14,6 %	1,73
Bw 16	9 %	11,7 %	1,34
B 17	5 %	3,5 %	0,69
B 18	7 %	5,8 %	0,82
B 21	1 %	2,3 %	2,33
Bw 22	3 %	2,9 %	0,97
B 27	3 %	13,5 %	5,05
Bw 35	20 %	14,6 %	0,68
B 37	4 %	2,9 %	0,72
B 40	15 %	15,8 %	1,06
B 53	1 %	0 %	0

Aus Tabelle 2 kann man entnehmen, daß HLA-B 21 positive Individuen ein 2,3 mal, HLA-B 27 positive Individuen sogar ein 5 mal höheres relatives Risiko haben, an chronischer Polyarthrititis zu erkranken.

Tabelle 3: HLA-C - System

HLA-C	Kontrollgruppe (n = 100)	c.P.-Gruppe (n = 171)	rR
Cw 1	1 %	2,9 %	2,96
Cw 2	4 %	13,5 %	3,75
Cw 3	13 %	15,8 %	1,26
Cw 4	19 %	10,5 %	0,50
Cw 5	3 %	2,9 %	0,97
Cw 6	3 %	0,6 %	0,20
Cw 7	3 %	0 %	0

Aus Tabelle 3 ist ersichtlich, daß HLA-Cw 1 positive Individuen ein 2,96 mal, und HLA-Cw 2 positive Individuen ein 3,75 mal höheres relatives Risiko haben, an chronischer Polyarthritits zu erkranken.

3.2. CHRONISCHE POLYARTHRITIS MIT RHEUMAKNOTEN

Bei unseren Untersuchungen kamen wir zu folgenden Ergebnissen:

Keine statistisch signifikanten Unterschiede fanden sich zwischen Normal-Probanden-Kollektiv und Rheumaknoten-Kollektiv bei folgenden Parametern:

- Suppressorzellaktivität	Protein A	mit	$p < 0,20$
- Suppressorzellaktivität	Con A	25 μg	$p < 0,30$
- Suppressorzellaktivität	PWM		$p < 0,35$
- Suppressorzellaktivität	PHA		$p < 0,20$
- Mitogen	Con A	25 μg	$p < 0,25$
- Mitogen	Con A	12,5 μg	$p < 0,25$
- Mitogen	PHA		$p < 0,25$
- Mitogen	PWM		$p < 0,15$
- Tuberculin GT 1			$p < 0,10$
- Tuberculin GT 10			$p < 0,20$
- Rubellaantigen			$p < 0,25$

Dagegen sind auf dem 5 % Niveau ($p < 0,05$) folgende Parameter auffällig:

- Suppressorzellaktivität	Con A 12,5 µg	mit	$p < 0,05$
- Suppressorzellaktivität	MLC		$p < 0,025$
- Mitogen	Protein A		$p < 0,05$
- Varidase			$p < 0,05$
- Diphtherietoxoid			$p < 0,25$
- Vacciniaantigen			$p < 0,0125$
- Masernantigen			$p < 0,05$
- Antigen-Cocktail			$p < 0,05$

(siehe Abbildungen 5, 9, 12 - 17)

Ein höchstsignifikanter Unterschied auf 1 % Niveau besteht bei den Antigen-Ansätzen mit Tetanustoxoid mit $p < 0,0005$ (Abbildung 11).

Bei den fünf Parametern, für die sich hoch- und höchstsignifikant Unterschiede zwischen Normalprobanden- und c. P.-Gesamtkollektiv ergaben, wurden nun anschließend noch Vergleiche gezogen zwischen Rheumaknotenkollektiv und c. P.-Gesamtkollektiv.

Keine statistisch signifikanten Unterschiede im Student's T-Test ergaben sich bei:

- Suppressorzellaktivität	MLC	mit	$p < 0,2$
- Mitogen	Protein A		$p < 0,35$
- Mitogen	PWM		$p < 0,15$

Die Lymphozytenstimulation gegen Masernantigen war im Rheumaknoten-Kollektiv verglichen mit dem c. P.-Gesamtkollektiv ($p < 0,05$) signifikant erhöht und gegen Tetanustoxoid hochsignifikant erniedrigt ($p < 0,01$), wie Abbildung 11 und 14 zeigen.

Das HLA-System konnte bezüglich der A-, B- und C-Loci bei 30 Patienten bestimmt werden. Die einzelnen HLA-Gene kamen dabei in folgender Häufigkeit vor, wobei in den Tabellen vergleichend die Werte des Normalprobandenkollektivs ($n = 100$), die Werte der Rheumaknotengruppe ($n = 30$) sowie der Wert des relativen Risikos (rR) gegenübergestellt sind:

Tabelle 4: HLA-A - System

HLA-A	Kontrollgruppe (n = 100)	c.P.-Rheumaknoten-Gruppe (n = 30)	rR
A 1	26 %	33,3 %	1,23
A 2	44 %	60,0 %	2,05
A 3	31 %	20,0 %	0,56
A 9	19 %	13,9 %	0,66
A 10	8 %	6,7 %	0,82
A 11	11 %	16,7 %	1,62
A 28	5 %	3,3 %	0,66
A 29	8 %	10,0 %	1,28
Aw 30+31	4 %	3,3 %	0,83

Wie aus Tabelle 4 ersichtlich ist, haben HLA-A 2 positive Individuen ein zweimal höheres relatives Risiko an chronischer Polyarthrititis mit Rheumaknoten zu erkranken.

Tabelle 5: HLA-B - System

HLA-B	Kontrollgruppe (n = 100)	c.P.-Rheumaknoten-Gruppe (n = 30)	rR
B 5	14 %	23,3 %	1,87
B 7	27 %	13,3 %	0,42
B 8	14 %	26,7 %	2,23
B 12	23 %	10,0 %	0,37
B 13	5 %	0 %	0
B 14	6 %	3,3 %	0,54
B 15	9 %	20,0 %	2,53
Bw 15	9 %	10,0 %	1,12
B 17	5 %	6,7 %	1,36
B 18	7 %	6,7 %	0,95
B 21	1 %	9,3 %	3,41
Bw 22	3 %	6,7 %	2,31
B 27	3 %	6,7 %	2,31
Bw 35	20 %	6,7 %	0,29
B 37	4 %	6,7 %	1,71
B 40	15 %	16,7 %	1,31
B 53	1 %	0 %	0

Aus Tabelle 5 kann man entnehmen, daß HLA-B 8 positive Individuen ein 2,23 mal, HLA-B 22 und B 27 Positive ein je 2,31 mal, HLA-B 15 Positive ein 2,53 mal und HLA-B 21 Positive ein 3,41 mal höheres relatives Risiko haben, an chronischer Polyarthrititis mit Rheumaknoten zu erkranken.

Tabelle 6: HLA-C - System

HLA-C	Kontrollgruppe (n = 100)	c.P.-Rheumaknoten-Gruppe (n = 30)	rP
Cw 1	1 %	6,7 %	7,07
Cw 2	4 %	20,0 %	6,00
Cw 3	13 %	23,0 %	2,04
Cw 4	19 %	3,3 %	0,15
Cw 5	3 %	0 %	0
Cw 6	3 %	0 %	0
Cw 7	3 %	0 %	0

Aus Tabelle 7 geht hervor, daß HLA Cw 3 positive Individuen ein zwei mal, HLA Cw 2 ein sechs mal und HLA Cw 1 sogar ein sieben mal höheres relatives Risiko haben, an chronischer Polyarthrititis mit Rheumaknoten zu erkranken.

3.3. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Tabelle 7 zeigt noch einmal unsere immunologischen Parameter in einer Synopse. Dabei werden nur statistisch hochsignifikante Unterschiede hervorgehoben. In Reihe 1 stehen die Werte, die im c. P.-Gesamtkollektiv erhöht (Δ) bzw. erniedrigt (∇) waren im Vergleich zum Normalkollektiv; Reihe 2 erfaßt Unterschiede beim Rheumaknotenkollektiv gegen das Normalkollektiv und Reihe 3 gegen das c. P.-Gesamtkollektiv. Ein Pfeil steht für die statistische Auffälligkeit auf dem 5 % Niveau, zwei für die auf dem 1 % Niveau.

Tabelle 7

Immunologische Parameter	c.P.Gesamtkoll. geg. Normalkoll.	Rh.-Knotenkont. geg. Normalkoll.	Rh.Knotenkont. geg. c.P.Ges.
- SZA Protein A	n. sig.	n. sig.	
- SZA Con A 25 ug	▽	n. sig.	
- SZA Con A 12,5 ug	▽	▽	
- SZA PWM	n. sig.	n. sig.	
- SZA PHA	n. sig.	n. sig.	
- SZA MLC	▽ ▽ ▽	▽	n. sig.
- Mitogen Protein A	△ △ △	△	n. sig.
- Mitogen Con A 25 ug	n. sig.	n. sig.	
- Mitogen Con A 12,5 ug	n. sig.	n. sig.	
- Mitogen PWM	△ △	n. sig.	n. sig.
- Mitogen PHA	n. sig.	n. sig.	
- Varidase	n. sig.	▽	
- Tetanustoxoid	▽ ▽	▽ ▽ ▽	▽ ▽
- Diphterietoxoid	n. sig.	▽	
- Tuberculin GT 1	△	n. sig.	
- Tuberculin GT 10	△	n. sig.	
- Vacciniaantigen	n. sig.	▽	
- Masernantigen	△ △ △	△	▽
- Rubellaantigen	△	n. sig.	
- Antigencocktail	▽	▽	

Aus Tabelle 7 geht hervor, daß beide Kollektive, c. P.-Gesamtkollektiv und Rheumaknoten-Gruppe meist ein ähnliches immunologisches Verhalten im Vergleich zu Normalprobanden an den Tag legen. Die Unterschiede liegen hauptsächlich auf dem Niveau der Irrtumswahrscheinlichkeit: So ist im Suppressorzellansatz in der MLC die Stimulierbarkeit der Lymphozyten des c. P.-Gesamtkollektivs statistisch hochsignifikant auf dem 1 % Niveau, die der Lymphozyten der Rheumaknotengruppe statistisch nur signifikant auf dem 5 % Niveau erniedrigt, im Vergleich zum Normalprobandenkollektiv. Die Lymphoblastopoese bei Stimulation durch das Mitogen Protein A ist beim c. P.-Gesamtkollektiv auf dem 1 % Niveau, beim Rheumaknotenkollektiv auf dem 5 % Niveau erhöht im Vergleich zum Normalprobandenkollektiv. In der Kultur mit dem Mitogen PWM zeigt sich trotz ähnlichen Verhaltens der Rheumaknotengruppe nur beim c. P.-Gesamtkollektiv eine statistisch hochsignifikante (1 % Niveau) Erhöhung der Lymphozytenaktivität verglichen mit dem Normalkollektiv.

Interessant und auffällig sind hinsichtlich der Unterschiede zwischen den drei Gruppen die Ergebnisse des Tetanustoxoid- und Masernantigen-Ansatzes: Die Lymphoblastopoese auf Stimulation mit dem Tetanustoxoid ist verglichen jeweils mit dem Normalkollektiv beim c. P.-Gesamtkollektiv auf dem 1 % Niveau statistisch hochsignifikant, beim Rheumaknotenkollektiv gar auf dem 1 % Niveau höchstsignifikant erniedrigt.

Zudem ist hier die Stimulierbarkeit der Lymphozyten des Rheumaknoten-Kollektivs statistisch hochsignifikant niedriger als die der Lympho-

zyten des c. P.-Gesamtkollektivs! Etwas anders liegt der Fall im Masern-antigen-Ansatz: Die Lymphoblastopoese ist beim c. P.-Gesamtkollektiv auf dem 1 %-Niveau erhöht, beim Rheumaknotenkollektiv nur auf dem 5 % Niveau. Untereinander verglichen zeigt sich, daß die Aktivierbarkeit der Lymphozyten vom Rheumaknoten-Patienten durch Masernantigen statistisch signifikant niedriger ist als die Aktivierbarkeit der Lymphozyten des c. P.-Gesamtkollektivs, daß sie aber immer noch statistisch signifikant höher liegt als beim Normalkollektiv.

Bei der Assoziation von HLA-Genen zu Krankheitsgruppen bedeutet ein rR von 2, daß der Genträger ein doppelt so hohes Risiko hat, die Krankheit zu bekommen als der Nichtgenträger, während bei einem relativen Risiko unter 2 ein Zusammenhang zwischen Vorkommen des Gens und einer bestimmten Krankheit nicht hergestellt werden kann. Wir geben deshalb an dieser Stelle eine Zusammenfassung von HLA-Genen, die im von uns untersuchten Kollektiv mit einem $rR > 2$ und so mit einer positiven Assoziation für die chronische Polyarthrit oder die chronische Polyarthrit mit Rheumaknoten einhergehen.

Tabelle 8

HLA	rR c. P. Patienten	rR Rheumaknotenpatienten
A 2		2,05
B 8		2,23
B 15		2,53
B 21	2,33	3,41
B 22		2,31
B 27	5,05	2,31
Cw 1	2,96	7,07
Cw 2	3,75	6,00
Cw 3		2,04

Tabelle 8 macht deutlich, daß für ein bestimmtes HLA-Gen ein höheres relatives Risiko für chronische Polyarthrititis zwar mit einem höherem relativen Risiko verbunden ist, an Rheumaknoten zu erkranken, daß der Umkehrschluß jedoch nicht gilt. Auffällig sind HLA Cw 1 und HLA Cw 2, die sowohl mit einem höherem relativen Risiko für chronische Polyarthrititis als auch mit sehr hohem relativen Risiko für Rheumaknoten behaftet sind.

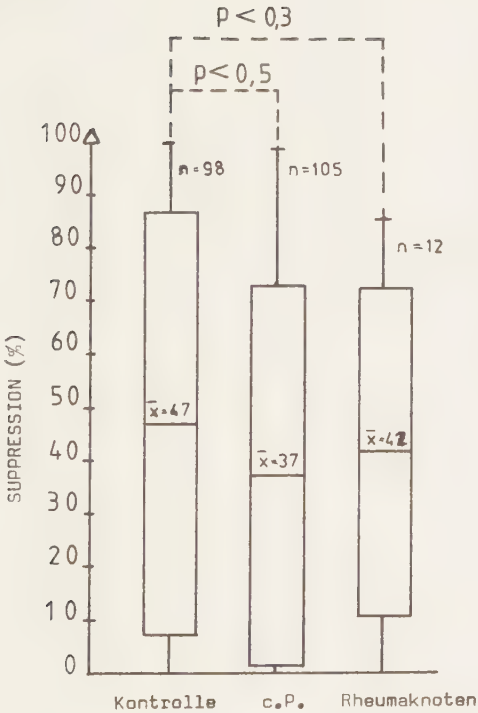


Abbildung 4

SZA von Con A 25 μ g - Stimul. Zellen

Die Suppressorzellaktivität war beim c. P.-Gesamtkollektiv statistisch auffällig erniedrigt. Die Rheumaknotengruppe unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

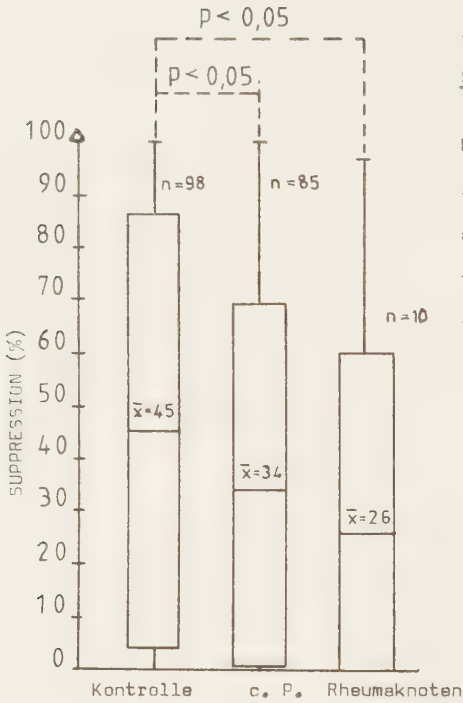


Abbildung 5

SZA von Con A 12,5 μ g-Stimul.Zellen

Die Suppressorzellaktivität war sowohl beim c. P.-Gesamtkollektiv als auch beim Rheumaknotenkollektiv statistisch auffällig erniedrigt.

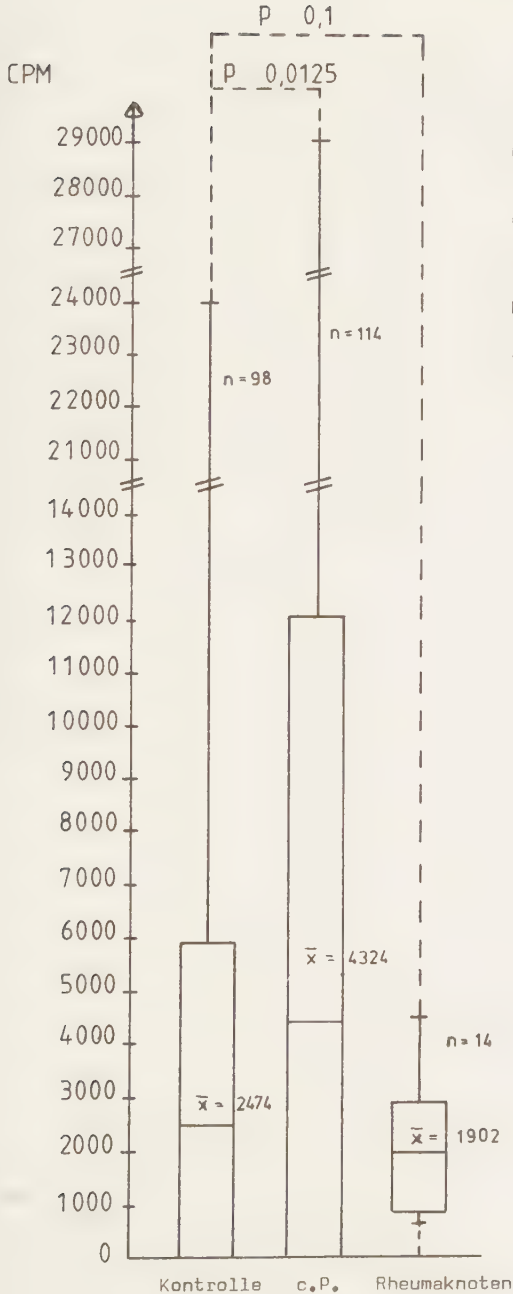


Abbildung 6

Lymphoblastopoese auf Stimulation
mit Tuberculin GT 1

Die Aktivität war beim c. P.-Ge-
samtkollektiv auffällig erhöht.

Die Rheumaknotengruppe unter-
schied sich nicht signifikant
von der Kontrollgruppe.

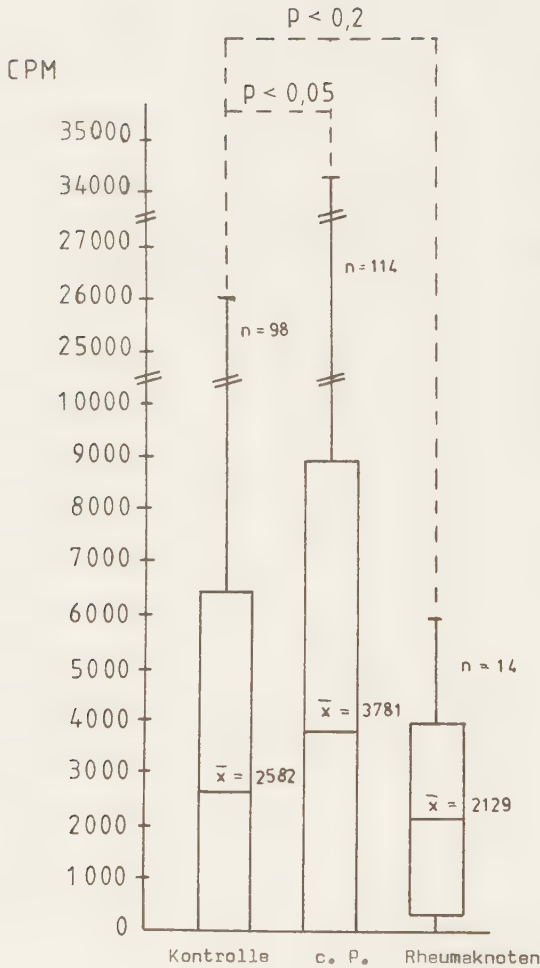


Abbildung 7

Lymphoblastopoese auf Stimulation
mit Tuberculin GT 10

Die Aktivität war beim c. P.-Ge-
samtkollektiv statistisch auf-
fällig erhöht. Die Rheumakno-
tengruppe unterschied sich nicht
signifikant von der Kontroll-
gruppe.

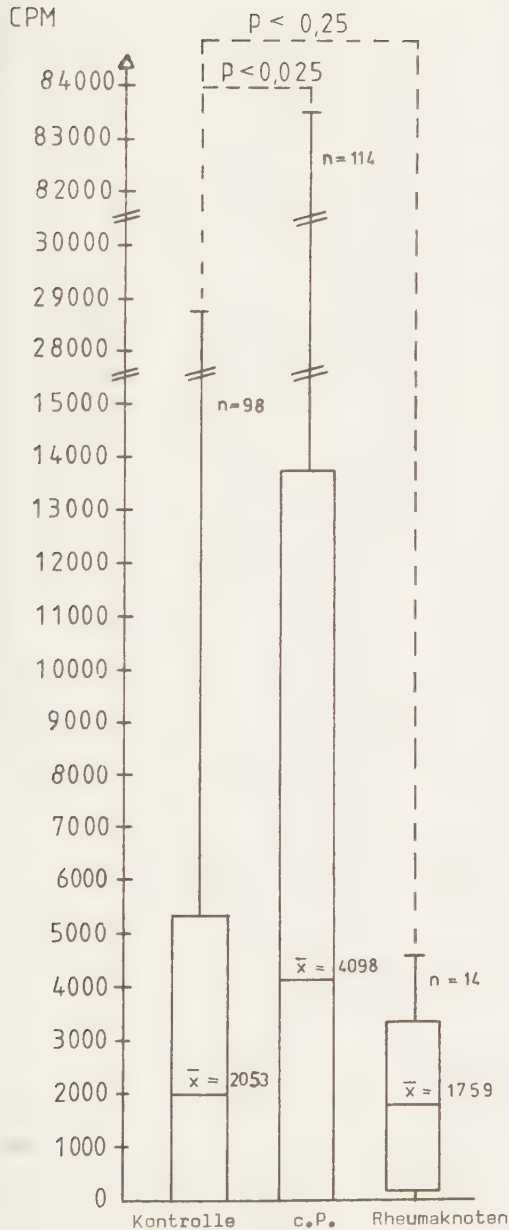


Abbildung 8

Lymphblastopoese auf Stimulation
mit Rubella Antigen

Die Aktivität war beim c. P.-Gesamtkollektiv statistisch auffällig erhöht. Die Rheumaknotengruppe unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

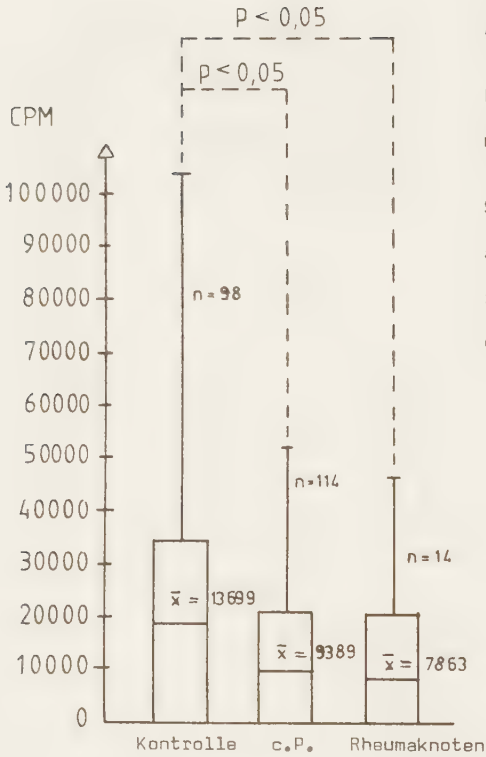


Abbildung 9

Lymphoblastopoese auf Stimulation
mit Antigen-Cocktail

Sowohl das c. P.-Gesamtkollektiv
als auch die Rheumaknotengruppe
zeigten statistisch auffällig
erniedrigte Aktivität.

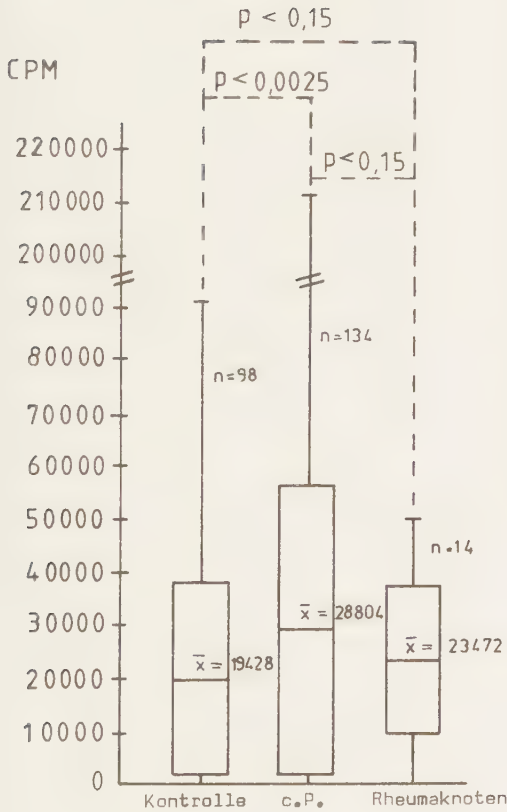


Abbildung 10

Lymphblastopoese auf Stimulation
mit Mitogen PWM

Nur das c. P.-Gesamtkollektiv
zeigte statistisch hoch signifi-
kant erhöhte Aktivität. Bei den
Rheumaknoten bestanden keine
signifikanten Unterschiede zu
Kontrollgruppe und c. P.-Gesamt-
kollektiv.

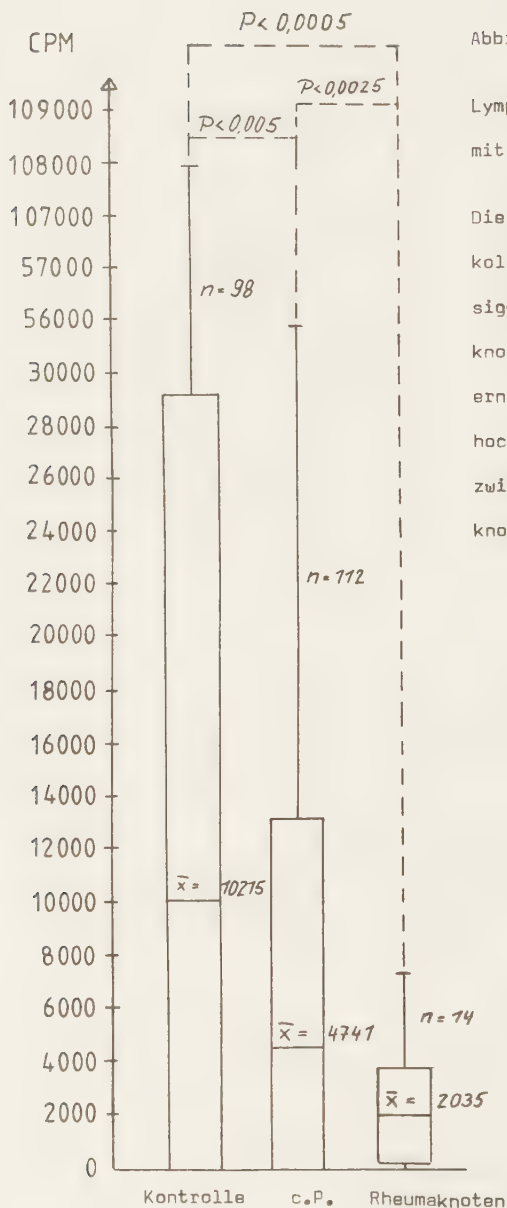


Abbildung 11

Lymphoblastopoese auf Stimulation
mit Tetanustoxoid

Die Aktivität beim c. P.-Gesamt-
kollektiv war statistisch hoch
signifikant erniedrigt. Beim Rheuma-
knotenkollektiv höchst signifikant
erniedrigt. Zusätzlich bestand ein
hoch signifikanter Unterschied
zwischen c. P.-Gesamt- und Rheuma-
knoten-Kollektiv.

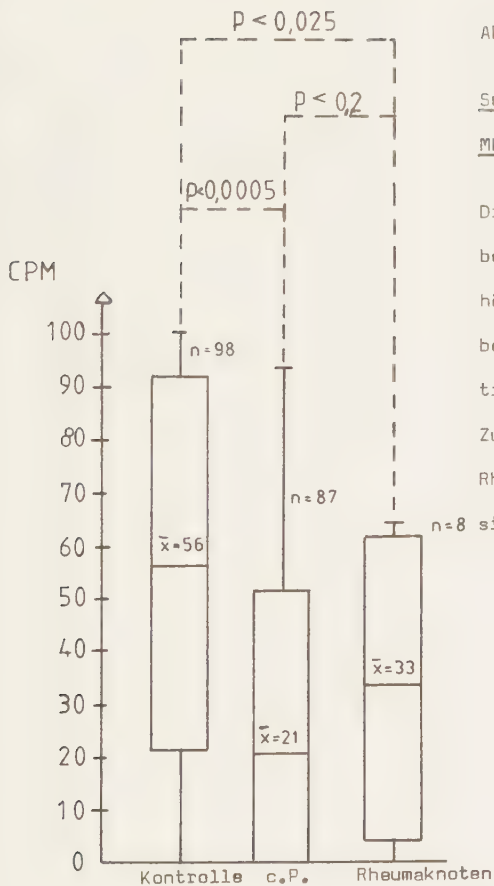


Abbildung 12

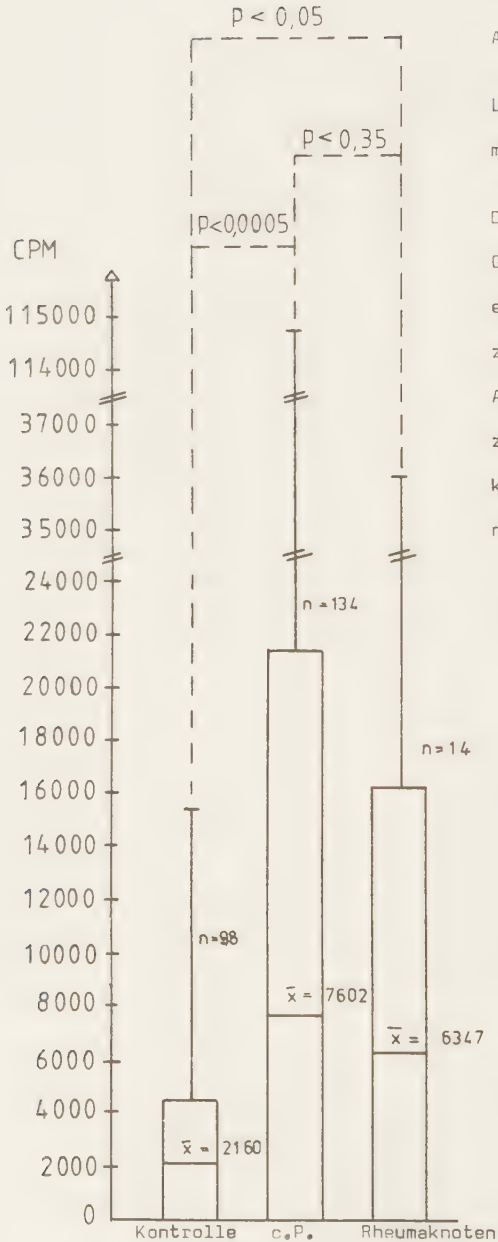
Suppressorzellaktivität in der
MLC

Die Suppressorzellaktivität war beim c. P.-Patienten-Kollektiv höchst signifikant erniedrigt, beim Rheumaknoten-Kollektiv statistisch auffällig erniedrigt. Zwischen c. P.-Gesamt- und Rheumaknotenkollektiv gibt es keine n=8 signifikanten Unterschiede.

Abbildung 13

Lymphoblastopoese auf Stimulation
mit Mitogen Protein A

Die Zellaktivität war beim c. P.-
Gesamtkollektiv höchst signifikant
erhöht. Die Rheumaknotengruppe
zeigte eine statistisch auffällige
Aktivitätserhöhung. Unterschiede
zwischen c. P.-Gesamt- und Rheuma-
knoten-Kollektiv waren statistisch
nicht signifikant.



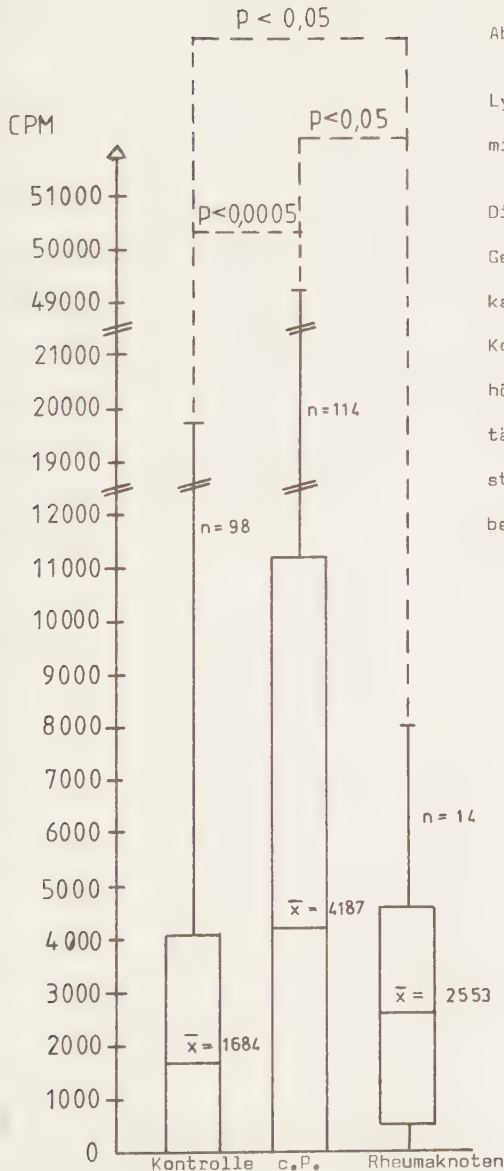


Abbildung 14

Lymphoblastopoese auf Stimulation
mit Masern-Antigen

Die Zellaktivität war beim c. P.-Gesamtkollektiv höchst signifikant erhöht, beim Rheumaknoten-Kollektiv statistisch auffällig erhöht. Zusätzlich war die Zellaktivität beim Rheumaknoten-Kollektiv statistisch auffällig niedriger als beim c. P.-Gesamtkollektiv.

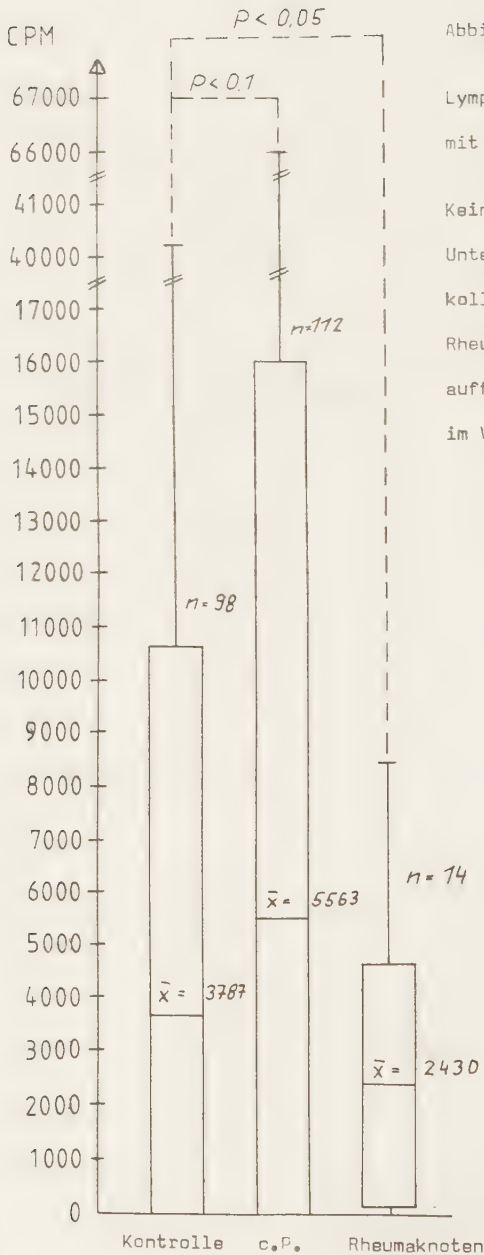


Abbildung 15

Lymphblastopoesis auf Stimulation
mit Varidase

Keine statistisch signifikanten
Unterschiede zwischen c. P.-Gesamt-
kollektiv und Kontrollgruppe. Die
Rheumaknotengruppe zeigte statistisch
auffällig erniedrigte Zellektivität
im Vergleich zur Kontrollgruppe.

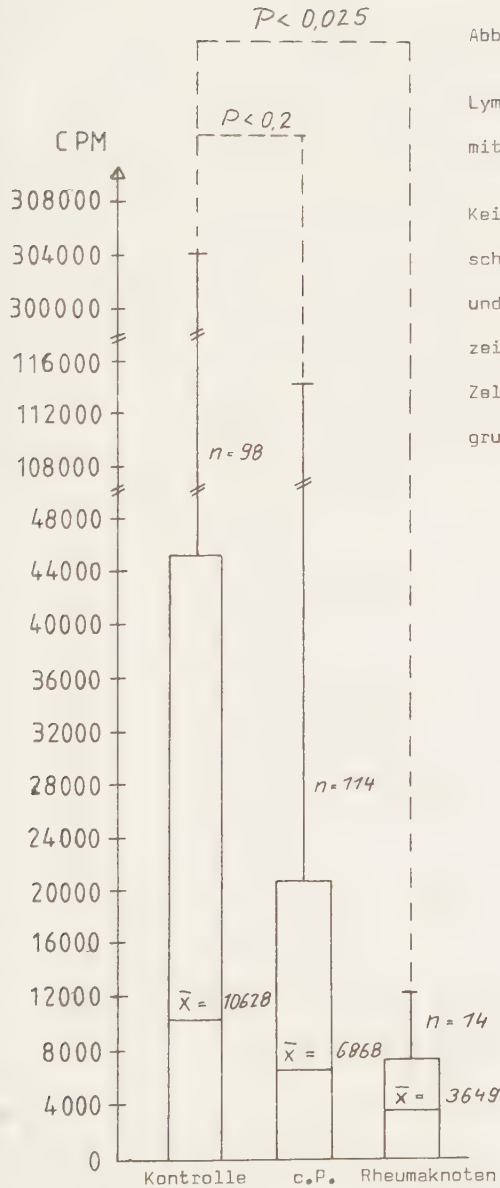


Abbildung 16

Lymphblastopoese auf Stimulation
mit Diphtherietoxoid

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen c. P.-Gesamtkollektiv und Kontrollgruppe. Die Rheumaknotengruppe zeigte statistisch auffällig erniedrigte Zellaktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe.

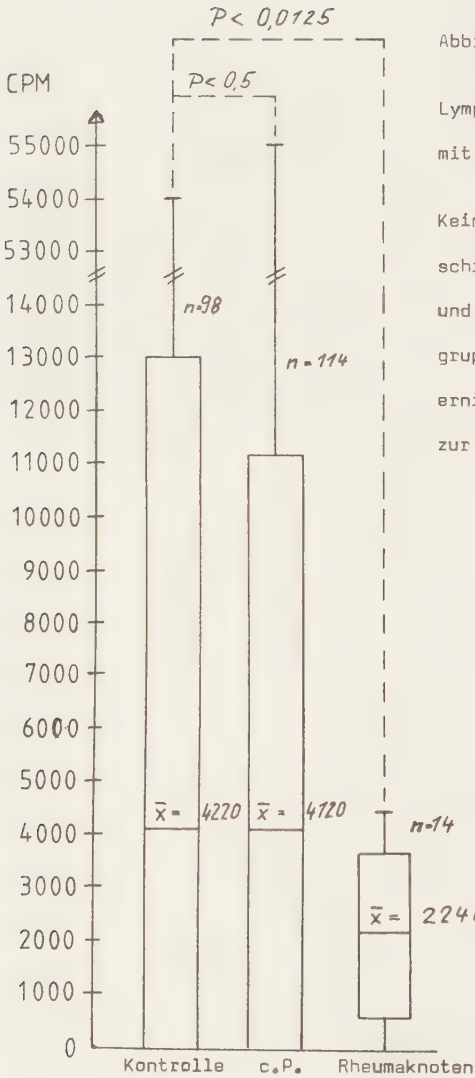


Abbildung 17

Lymphoblastopoese auf Stimulation
mit Vaccinia-Antigen

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen c. P.-Gesamtkollektiv und Kontrollgruppe. Die Rheumaknoten-
gruppe zeigte statistisch auffällig erniedrigte Zellaktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe.

4. DISKUSSION

Das c. P.-Gesamtkollektiv zeigt im Vergleich zum Normalprobandenkollektiv eine erniedrigte Suppressorzellaktivität im Concanavalin-A-System und besonders in der gemischten Lymphozytenkultur (MLC = mixed lymphocyte culture), beides Systeme, in denen vorzugsweise T-Zellen zur Stimulation kommen (126, 146, 155, 156, 172). Gleichzeitig fanden wir eine höhere T-Lymphoblastopoese auf Stimulation mit den Antigenen Tuberculin GT 1, GT 10, Rubella und Masern, eine erhöhte T-, bzw. Nullzellaktivität in der Protein A-Kultur und eine erhöhte B-Zellstimulierbarkeit durch PWM (68, 148, 161, 165, 174). Dagegen war die T-Zellaktivität durch Tetanustoxoid (23) und durch einen viralen Antigen-Cocktail vermindert. Bei der Mitogenstimulation mit PHA und Concanavalin A ergab sich im Gegensatz zu anderen Untersuchungen keine Verminderung der Lymphozyten-Aktivität (143, 173).

Die erniedrigte Suppressorzellaktivität gegenüber T-Lymphozyten, die im c. P.-Gesamtkollektiv im Concanavalin-A-System und in der gemischten Lymphozytenkultur gefunden wurde, kann nun verschiedene Ursachen haben. Zum einen kommt eine relative Verminderung der Zahl der Suppressorzellen in der Kultur in Betracht, etwa durch Anti-T-Antikörper (167), zum anderen kann ein Funktionsdefekt bei normaler Anzahl der Suppressorzellen verantwortlich sein, und schließlich können diese beiden Möglichkeiten auch koexistent sein, d. h. es liegt ein Funktionsdefekt bei gleichzeitiger

quantitativer Reduktion der Suppressorzellen vor (66). Nach Fundenberg (75) sind Störungen der Suppressorzellaktivität von eminenter Wichtigkeit, da sie alle Autoimmunkrankheiten und Erkrankungen mit vor allem immunologischen Veränderungen charakterisieren könnten! Obwohl im PWM-System ein erhöhtes Ansprechen der Lymphozyten festgestellt werden konnte und somit Rheumatiker auch eine gegenüber Normalprobanden erhöhte B-Zell-Stimulierbarkeit zeigen (66), war die Suppressorzellaktivität im PWM-System normal. Da T-Zellen als Helferzellen in den Proliferationsprozeß der Antikörper produzierenden B-Lymphozyten eingreifen, könnte die erhöhte B-Zell-Stimulierbarkeit durch eine erhöhte T-Helferzellaktivität im Rahmen einer insgesamt erhöhten T-Zell-Reaktivität erklärbar sein. Möglich wäre auch, daß eine Subpopulation von B-Zellen nicht mehr auf Suppressorreize anspricht (167). Trotz normaler Suppressorzellaktivität gegenüber proliferierenden B-Zellen könnte es somit in Koinzidenz mit spezifisch wirksamen pathologischen Agenzien wie Bakterien oder Viren zu einer überschießenden humoralen Immunreaktion kommen, so daß sich die Antikörperproduktion schließlich nicht mehr gegen das pathologische Agens, sondern gegen die von ihm befallenen Strukturen (103, 180, 199) richtet. Es könnte somit ein autoaggressiver Prozeß im Sinne einer chronischen Polyarthritits Platz greifen. Einschränkend ist allerdings hinzuzufügen, daß z. B. die Ansprechbarkeit von Rheumatikerlymphozyten auf Tetanustoxoid, das auch T-Zellen zur Stimulation bringt (23), gegenüber Normalprobanden erniedrigt ist. Diese Einschränkung gilt auch für die Stimulation mit einem viralen Antigengemisch, das ebenfalls T-Zellen zur Stimulation

bringt. Daß hier keine Erhöhung der Reaktivität der B-Zellen nachgewiesen werden konnte, spricht wiederum für die oben aufgestellte These, daß die im PWM-System festgestellte B-Zell-Proliferation durch erhöhte T-Helferzellaktivität im Rahmen einer insgesamt erhöhten T-Zell-Reaktivität erklärbar ist. Somit fällt einzig die erniedrigte Stimulierbarkeit durch Tetanustoxoid aus dem Rahmen; allerdings ist diese statistisch höchstsignifikant noch um einiges niedriger beim Rheumaknotenkollektiv. Da bei der Aufbereitung dieses Antigenes Makrophagen eine bedeutende Rolle spielen (23), muß daran gedacht werden, daß möglicherweise die veränderte Funktion dieser Zellen dafür verantwortlich ist. Dieser Zusammenhang von c. P., Rheumaknoten und geringerer Aktivierbarkeit von T-Lymphozyten wäre genauer zu überprüfen!

Die Rheumaknotengruppe zeigt im Wesentlichen ein dem Rheumatikergesamtkollektiv vergleichbares Verhalten. In den T-Zell-stimulierenden Systemen mit Con-A und in der MLC ist die Suppressorzellaktivität gegen T-Zellen herabgesetzt, im PWM-System gegen B-Zellen normal im Vergleich mit dem Normalkollektiv. Die folgenden Parameter sind beim Rheumaknotenkollektiv im Vergleich zum Kontrollkollektiv ebenso wie beim c. P.-Gesamtkollektiv erhöht: Die Stimulierbarkeit von T-Zellen und non-T-Zellen durch Mitogen Prot A und von T-Zellen durch Masernantigen. Bei letzterem ist die Aktivierbarkeit beim Rheumaknotenkollektiv statistisch auffällig niedriger als beim c. P.-Kollektiv! Keine signifikanten Unterschiede zwischen Rheumaknoten- und Normalkollektiv bestehen bei den Reaktionen auf PWM,

Tuberculin und Rubellaantigen. Dagegen ergibt sich eine statistisch auffällige Aktivitätserniedrigung, wo beim c. P.-Gesamtkollektiv kein Unterschied gesichert ist, bei Rheumaknotenpatienten gegen Normalprobanden in der Stimulierbarkeit von Lymphozyten durch Varidase, von T- und B-Lymphozyten durch Diphtherietoxoid und von T-Lymphozyten durch Vaccinia. Wie beim Polyarthritikerkollektiv fällt die erniedrigte Aktivierbarkeit von T- und B-Zellen durch den Ag-Cocktail aus, ähnlich beim Tetanustoxoid. Hier allerdings ist der Unterschied zum Normalprobandenkollektiv bedeutend, die Stimulierbarkeit so niedrig, daß sogar ein statistisch hochsignifikanter Unterschied zum c. P.-Gesamtkollektiv besteht.

Die vorliegenden Befunde deuten darauf hin, daß die Suppressorzellaktivität gegen T-Zellen auch bei Patienten mit Rheumaknoten erniedrigt ist, allerdings nicht in so starkem Ausmaß wie bei der c. P. Dies läßt hier etwa dieselben Schlüsse zu wie bei der c. P.; Verminderung der Suppressorzellzahl, funktioneller Defekt oder beides. Die B-Zellaktivität unterschied sich kaum von der im Normalprobandenkollektiv, ein Helfer-Effekt scheint ausgeschlossen. Die T-Zellaktivität war nur bei der Stimulation mit Mitogen Protein A und Masernantigen erhöht, ansonsten erniedrigt bei der Stimulation von T-Zellen und B-Zellen durch Diphtherietoxoid, und der Stimulation von T-Zellen durch Varidase, Vacciniaantigen und Tetanustoxoid.

Dies ist nur schwer mit einer zu niedrigen Suppressorzellaktivität in Einklang zu bringen. Eine Hypothese wäre, wenn ein kombinierter Defekt vorliegen würde, also z. B. sowohl eine verminderte Suppressor-, als auch eine stark verminderte Helferaktivität gegenüber T-Lymphozyten. Wird der Defekt also wirklich durch T-Zellen verursacht, dann läßt sich dadurch gut erklären, daß die Stimulierbarkeit von Varidase, Ag-Cocktail- und Diphtherietoxoid-Ansätzen trotz nicht beeinträchtigter B-Funktion erniedrigt ist. Somit bleibt zuletzt noch zu eruieren, woher die erhöhte Aktivität im Masern- und Protein A-Ansatz rührt. Interessant scheint uns hier die Tatsache, daß im Protein A-Ansatz T- und Nullzellen getestet werden. Vielleicht kommt es so zu einer Überlagerung von Monozyten-Effekten (165). In diesem Ansatz verhalten sich die Zellen von Rheumaknotenpatienten auch sehr ähnlich den c. P.-Patientenzellen, während sie in der Mehrzahl der Tests eher wie Normalzellen reagieren, zumindest jedoch eine Mittelstellung zwischen den Zellen von c. P.-Patienten und Normalprobanden einnehmen. Dies gilt ebenso für das Masernantigen, doch ist die Aktivität hier nur statistisch auffällig höher. Die Signifikanz gibt übrigens in diesem Zusammenhang nicht etwa an, wie weit die Mittelwerte der Stichproben voneinander entfernt sind, sondern ist nur ein Maß dafür, wie klein die Möglichkeit eines Irrtums wird, wenn man annimmt, daß Unterschiede zwischen den Stichproben nicht zufällig sind.

Berücksichtigt man dies sowie den Umfang der Rheumaknotenstichprobe, lassen sich Unterschiede zwischen Rheumaknotenkollektiv, c. P.-Gesamtkollektiv und Normalprobanden wie folgt herausarbeiten:

- Bei der c. P.
- erniedrigte T-Suppressorzellaktivität eventuell durch numerischen oder funktionellen Suppressorzelldefekt
 - erhöhte B-Lymphozytenstimulierbarkeit, möglicherweise hervorgerufen durch T-Helfereffekte
 - erhöhte Aktivierung von T-Lymphozyten durch Antigen- und Mitogenstimulation als Ausdruck des Suppressorzelldefekts.
 - erniedrigte Stimulation durch Ag-Cocktail, Tetanustoxoid und Diphterietoxoid.

Bei den Rheumaknoten

- erniedrigte T-Suppressorzellaktivität, womöglich in Verbindung mit T-Helferdefekt
- normale B-Zell-Antwort
- erniedrigte T-Zellaktivierung als Ausdruck des Helferdefekts
- erhöhte Stimulation durch das Mitogen Protein A und Masernantigen, vielleicht ein Null-Lymphozyten oder Makrophagen-Effekt.

Es hat sich nun gezeigt, daß zwischen Rheumaknoten- und c. P.-Patienten in ihrer Gesamtheit zwar immunfunktionelle Unterschiede (T-Lymphozyten-aktivierung) bestehen, daß diese aber einen gemeinsamen Mechanismus der Krankheitsentstehung nicht ausschließen (Suppressorzelldefekt). Vice versa konnten diese Unterschiede aber darauf hindeuten, daß es sich sehr wohl bei der Rheumaknotengruppe um eine durch immunfunktionelle Unterschiede zum Gesamtkollektiv definierte nosologische Untergruppe handeln könnte.

Wahrscheinlich kodieren für die Suppressorzellaktivität Gene des MHA auf dem 6. Chromosom (11). Wir fanden in unserer Studie im c. P.-Gesamtkollektiv eine schwach positive Assoziation zu den HLA-Genen B 21 ($rR = 2,33$) und Cw 1 ($rR = 2,96$), sowie eine deutlich positive Assoziation zu den Genen Cw 2 ($rR = 3,75$) und B 27 ($rR = 5,05$). Träger dieser Gene haben also offensichtlich ein erhöhtes Risiko, an einer chronischen Polyarthrititis zu erkranken, was durch die genetische Determinierung der reduzierten Suppressorzellaktivität bedingt sein könnte. Im Rheumaknotenkollektiv fanden sich schwach positive Assoziationen zu den Genen A_2 , B_8 , B_{15} , B_{22} , B_{27} und C_3 . Stärker positiv assoziiert war B_{21} mit einem rR von 3,41, C_1 mit 7,07 und C_2 mit dem rR von 6. Der Phänotyp C_2 war zudem mit einem hohen relativen Risiko (5,05) für die c. P. belastet, mit einem etwas schwächeren C_1 (2,96). Umgekehrt hatten zwar Patienten mit B_{27} ein rR von 5,05 an c. P. zu erkranken, jedoch nur eines von 2,31, ein Rheumaknotensyndrom zu entwickeln. Sollte ein Zusammenwirken mehrerer

Gene im Sinne einer Genkomplementierung an der Krankheitsentstehung beteiligt sein, so müßte bei nachgewiesenem Kopplungsgleichgewicht zwischen den einzelnen Genotypen für einen Probanden mit dem Phänotyp dieser Gene ein höheres relatives Risiko zu errechnen sein!

Unsere Ergebnisse zeigten, daß alle Patienten mit dem HLA-Typ, der mit einem höheren relativen Risiko für c. P. assoziiert ist, auch ein höheres Risiko zu tragen hatten, an Rheumaknoten zu erkranken. Mit Ausnahme von HLA-B 27 war das sogar mit einem besonders hohen Risiko verbunden! Dies läßt zwei Schlüsse zu: Erstens scheint es sich beim Rheumaknotensyndrom um eine besondere Ausprägung der Krankheit c. P. zu handeln. Zweitens hat man sich die Frage zu stellen, ob nicht andere Krankheiten, wie z. B. die Spondylitisankylosans, vollständig unter dem Bild einer c. P. ablaufen können. Somit wäre jedes Rheumaknotensyndrom eine c. P., umgekehrt gäbe es jedoch c. P.-Formen, die nie unter der Entwicklung von Rheumaknoten ablaufen!

Für unsere Hypothesen besteht jedoch immer die Gefahr, daß wir durch Artefakte getäuscht worden sind. Dies kann z. B. durch die relativ kleine Zahl von Rheumaknoten-Patienten mit HLA-Typisierung (n = 30) im Vergleich zu c. P.-Patienten mit HLA-Typisierung (n = 171) bedingt sein; bei einer in der Zahl dem c. P.-Gesamtkollektiv angeglichenen Rheumaknotengruppe wäre ein Verschwinden dieser Anhäufung durchaus denkbar.

Es ist aber durchaus vorstellbar, daß so noch wesentlich deutlichere Unterschiede zwischen einzelnen c. F.-Formen herauszuarbeiten sind bzw. eine Unterscheidung in unterschiedliche Erkrankungen abgewiesen werden kann!

5. ZUSAMMENFASSUNG

In unserer Untersuchung wurde ein Kollektiv von 234 Patienten mit c. P. und ein Kollektiv von 30 Rheumaknotenpatienten immungenetisch (HLA-A, -B, -C) und immunfunktionell (Mitogen-, Antigenstimulation; Suppressorzellaktivität) jeweils mit einem Normalprobandenkollektiv (n = 98) verglichen. Beiden Gruppen war die erniedrigte Suppressorzellaktivität gemeinsam. Die B-Lymphozytenstimulierbarkeit im PWM-System war bei dem c. P.-Kollektiv jedoch im Gegensatz zur Rheumaknotengruppe erhöht ($p < 0,0025$). Die Aktivierbarkeit der T-Lymphozyten lag durchweg höher als bei Normalprobanden (Tuberculin GT 1: $p < 0,0125$; Tuberculin GT 10: $p < 0,05$; Rubella: $p < 0,025$; Mitogen Protein A: $p < 0,0005$; Masern: $p < 0,0005$), hingegen bewegte sie sich bei der Rheumaknotengruppe entweder im Normbereich oder war erniedrigt (Diphtherietoxoid: $p < 0,025$; Vaccinia: $p < 0,0125$; Tetanustoxoid: $p < 0,0005$). Die Lymphoblastopoese war statistisch signifikant ($p < 0,05$) erhöht in der Rheumaknotengruppe bei Stimulation durch Mitogen Protein A und Masernantigen, im c. P.-Gesamtkollektiv war sie statistisch signifikant erniedrigt bei Stimulation durch den Ag-Cocktail ($p < 0,05$), bzw. hochsignifikant vermindert im Ansatz mit Tetanustoxoid ($p < 0,01$).

Im HLA-System zeigte sich, daß bei beiden Gruppen die HLA-Typen B₂₁, C₁ und C₂ ein erheblich erhöhtes relatives Risiko zu tragen hatten, sowohl an c. P. zu erkranken, als auch Rheumaknoten zu entwickeln. Der bei c. P.-Patienten gehäuft vorkommende Phänotyp B 27 hatte kein erhöhtes relatives Risiko, an Rheumaknoten zu erkranken! Die entsprechenden Werte für das relative Risiko waren bei HLA -

B 21	2,33	} beim c. P. Gesamtkollektiv und	3,41	} beim Rheuma- knotenkollektiv
B 27	5,05		2,31	
C 1	2,96		7,07	
C 2	3,75		6,00	

Beide Gruppen zeigen also eine differente Immunfunktion. Wegen der Beziehungen zu verschiedenen HLA-Genen konnte es sich um genetisch determinierte Immunvarianten handeln, die das Auftreten dieser Begleitsymptome begünstigen. Normalprobanden mit analoger Immunfunktion und Immungenetik kommen dann als Reservoir in Betracht.

6. L I T E R A T U R N A C H W E I S

- 1) Abdou, M., Lindsley, W.B., Rasela, L.S.: Suppressor T-cell dysfunction and anti-suppressor cell activity in active early rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 8, 9 (1981)
- 2) Abdou, M.I., Pascual, E., Racela, L.S.: Suppressor T-cell dysfunction and anti-suppressor T-cell antibody in active early rheumatoid arthritis (abstract). Arthritis Rheum. 22, 586 (1974)
- 3) Ackroyd, J.F.: Thrombocytopenic purpura due to drug hyper sensitivity. In "Sensitivity Reactions to Drugs". Hrsg.: Rosenheim, M.L. und Moulton, R., Blackwell, Oxford (1958)
- 4) Adler, C.P., Beneke, G.: Störungen der Fortbewegungsorgane. In: Sandritter, Beneke (Hrsg.), Allgemeine Pathologie. Schattauer Verlag, Stuttgart, S. 702 (1974)
- 5) Albrecht, H.J.: Rheumatologie für die Praxis. S.Karger Verlag Basel (1979)

- 6) Alspaugh, M.A., Jonson, F.G., Robin, H. and Tan, E.M.: Lymphocytes transformed by Epstein Barr virus. Induction of nuclear antigen reactive with antibody in rheumatoid arthritis. J. Exp. Med. 148, 1018 (1978)
- 7) Ball, j., Lawrence, J.S.: Epidemiology of the sheep cell agglutination test. Ann. rheum. Dis. 20, 235 (1961)
- 8) Bankhurst, A.D., Husby, G., Williams, R.C. : Predominance of T-cells in the lymphocytic infiltrates of synovial tissues in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 19, 555 (1976)
- 9) Barnett, E.V., Winkelstein, A., Weinberger, H.J. : Agammaglobulinemia with polyarthritis and subcutaneous nodules. Amer. J. Med. 48, 40 (1970)
- 10) Behrend, T., Lawrence, J.S. : Die Epidemiologie der rheumatischen Erkrankungen. In: Blohmke, M., Ferber, Ch. von Kisker, K.P., Schäfer, H. (Hrsg.), Handbuch der Sozialmedizin Bd. 2, Epidemiologie und präventive Medizin. Enke Verlag, Stuttgart (1977)
- 11) Benacerraf, B. : Role of MHC gene products in immune regulation. Science 212, 1229 (1981)

- 12) Beneke, F.: Allgemeine Pathologie der Interzellulärsubstanz.
In: Sandritter, Beneke (Hrsg.), Allgemeine Pathologie. Schattauer
Verlag, Stuttgart, S. 279 (1974)
- 13) Bennet, P.H., Wood, P.H.H.: Recommendations population studies of
the rheumatic diseases 435. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam
(1968)
- 14) Bergmann, A.D. und Jaster, D.: Nachweis eines synovialtypischen Pro-
teins bei rheumatoider Arthritis. J. Rheumaforschung. 29, 198 (1970)
- 15) Biberfeld, G., Nilsson, E., Biberfeld, P.: T-lymphocyte sub-
populations in synovial fluid of patients with rheumatic disease.
Arthritis und Rheumatism, 22, 978 (1979)
- 16) Blanden, R.V., Doherty, P.C., Dunlop, M.B.C., Gardner, I.D.,
Zinkernagel, R.M., David, C.S.: Genes required for T-cell mediated
cytotoxicity against virus-infected target cells are in the K or D
regions of the H-2 gene complex. Nature 254, 269 (1975)
- 17) Bodmer, W.F., Batchelor, J.R., Bodmer, J.G., Festenstein, H.
Morris, P.J.: Histocompatibility Testing, 1977. Copenhagen,
Munksgaard (1978)

- 18) Bokisch, V.A., Müller-Eberhard, H.J., Cochrane, C.G.: Isolation of fragment (C 3a) of the third component of human complement containing anaphylatoxin and chemotactic activity and description of an anaphylatoxin inactivator of human serum. J. exp. Med. 129, 1109
- 19) Boyum, A.: Separation of leucocytes from blood and bone marrow Scand. J. clin. lab. Invest. 21, Suppl. 97, 1 (1968)
- 20) Brackertz, D.: Chronische Polyarthrit. Euler-Verlag, Basel (1980)
- 21) Brackertz, D., Hagmann, J. Kueppers, F.: Proteinase inhibitors in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 34, 225 (1975)
- 22) Brackertz, D., Kueppers, F., Müller, W.: Demonstration and partial characterization of a protein in synovial fluid and its possible meaning. In "Rheumatoid Arthritis Pathogenic Mechanismus and Consequences in Therapeutics". Academic. Press, London, p. 261 (1971)
- 23) Broff, M.D., Jonsen, M.E., Geha, R.S.: Nature of the immunogenic moiety recognized by the human T-cell proliferating in response to tetanus toxoid antigen. Eur. J. Immunol. 11, 365 (1981)

- 24) Buisseret, P.D., Pembrey, M.E., Lessof, M.H.: α_1 -Antitrypsin phenotypes in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. Lancet 11, 1358 (1977)
- 25) Bunim, J.J., Burch, T.A., O'Brien, W.M.: Influence of genetic and environmental factors on the occurrence of rheumatoid arthritis and rheumatoid factor in American Indians. Bull. Rheum. Dis. 15, 349 (1964)
- 26) Burch, T.A., O'Brien, W.M., Bunim, J.J.: Family and genetic studies of rheumatoid arthritis and rheumatoid factor in Blackfeet Indians. Amer. J. publ. Hlth. 54, 1184 (1964)
- 27) Bywaters, E.G.L.: The relation between heart and joint disease including "rheumatoid heart disease" and "chronic post-rheumatic arthritis (Type Jaccoud)". Brit. Heart J. 12 (1950)
- 28) Cabanel, G., Voog, R., Stefani, D., Gros Lambert, P., Marchal, A.: Polyarthrititis rheumatoid de l'adulte révélatrice d'une agammaglobulinémie. Sem. Hosp. 45, 3034 (1969)

- 29) Cantor, H. Asofsky, R.: Synergy among lymphoid cells mediating the graft-vs-host response. II. Synergy in graft-vs-host reactions produced by BALB/c lymphoid cells of differing anatomic origin. J. Exp. Med. 131, 235 (1970)

- 30) Cantor, H., Boyse, E.A.: Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different Ly antigens. 2. Cooperation between subclasses of Ly⁺ cells in the generation of killer activity. J. Exp. Med. 141, 1390 (1975)

- 31) Cantor, H., Simpson, E.: Regulation of the immune response by subclasses of T-lymphocytes. I. Interactions between pre-killer T-cells and regulatory T-cells obtained from peripheral lymphoid tissues of mice. Eur. J. Immunol. 5, 330 (1975)

- 32) Cardella, C.J., Davies, P., Allison, A.C.: Immune complexes induce selective release of lysosomal enzymes. Nature 247, 46 (1974)

- 33) Castor, C.W.: Connective tissue activation II. Abnormalities of cultured rheumatoid synovial cells. Arthritis Rheum. 14, 55 (1971)

- 34) Castor, C.W., Dorstewitz, E.L.: Abnormalities of connectiv tissue cells cultured from patients with rheumatoid arthritis. J. Lab. clin. Med. 68, 300 (1966)

- 35) Castor, C.W., Lewis, R.B.: Connective tissue activation. X. Current studies of mediators and the process. Scand. J. Rheumatol. 5, 41 (1975)

- 36) Castor, C.W., Ritchie, J.C., Scott, M.E. Whitney, S.L.: Connective tissue activation. XI. Stimulation of glycosaminoglycan and DNA formation by a platelet factor. Arthritis Rheum. 20, 859 (1977)

- 37) Cats, A., Hazevoet, H.M.: Significance of positive tests for rheumatoid factor in the prognosis of rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 29, 254 (1970)

- 38) Chandler, R.W., Robinson, H., Masi, A.T.: Serological investigations for evidence of an infectious etiology of rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 30, 274 (1971)

- 39) Clamen, H.N., Chaperon, E.A., Triplett, R.F.: Immunocompetence of transferred thymus-marrow cell combinations. J. Immunol. 97, 828 (1966)

- 40) Cochrane, W., Davies, D.V., Dorleng, J., Bywaters, E.G.L.: Ultramicroscopic structures of the rheumatoid nodule. Ann. Rheum. Dis. 23, 345 (1964)

- 41) Cole, G.A., Nathanson, N.: Lymphocytic choriomeningitis pathogenesis, *Progr. Med. Virol.* 18, 94 (1975)
- 42) Cole, G.A., Nathanson, N., Prendergast, R.A.: Requirement for O bearing cells in lymphocytic choriomeningitis virus-induced central nervous system disease. *Nature* 238, 335 (1972)
- 43) Cone, R.E., Feldmann, M., Marchalonis, J.J., Nossal, G.J.V.: Cytophilic properties of surface immunoglobulin of thymus-derived lymphocytes. *Immunology* 26, 49 (1974)
- 44) Conn, D.L., Schroeter, A.L., McDuffie, F.C.: Cutaneous vessel immune deposits in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 19, 15 (1976)
- 45) Cooke, T.D., Hurd, E.R., Jasin, H.E.: Identification of immunoglobulins and complement in rheumatoid articular collagenous tissues. *Arthritis Rheum.* 18, 563 (1975)
- 46) Cooke, T.D., Hurd, E.R., Ziff, M., Jasin, H.E.: The pathogenesis of chronic inflammation in experimental antigen-induced arthritis. II. Preferential localization of antigen-antibody complexes to collagenous tissues.

- 47) Cooper, M.D., Peterson, R.D.A., Good, R.A.: Delineation of thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. *Nature* 205, 143 (1965)

- 48) Cooper, M.D., Peterson, R.D.A., South, M.A., Good, R.A.: The functions of the thymus systems and the bursa system in the chicken. *J. Exp. Med.* 123, 75 (1966)

- 49) Coutelle, C., Rath, F.W., Die Bewegungsorgane. In: Kettler, L.H. (Hrsg.), *Lehrbuch der speziellen Pathologie*. Gustav Fischer Verlag Stuttgart, S. 893 (1976)

- 50) Cox, D.W., Huber, O.: Rheumatoid arthritis and α_1 -antitrypsin. *Lancet* 1, 1216 (1976)

- 51) Dausset, J.: Iso-leuco-anticorps. *Actahaemat.* 20, 156 (1958)

- 52) Dausset, J.: Leuco-agglutinins. *Vox sang.* 4, 190 (1954)

- 53) Davies, D.V.: The anatomy and physiology of joint. In: Copeman, W.S.C., *Textbook of the rheumatic disease*. Livingstone, Edinburgh, London (1964)

- 54) Dayer, J.M., Krane, S.M.: The interaction of immunocompetent cells and chronic inflammation as exemplified by rheumatoid arthritis. Clin. Rheum. Dis. 4, 517 (1978)

- 55) Dayer, J.M., Robinson, D.R., Krane, S.M.: Prostaglandin production by rheumatoid synovial cells stimulation by a factor from human mononuclear cells. J. Exp. Med. 145, 1393 (1977)

- 56) Dayer, J.M., Russell, R.G.G., Krane, S.M.: Collagenase production by rheumatoid synovial cells: Stimulation by a human lymphocyte factor. Science 195, 181 (1977)

- 57) De Blécourt, J.J.: Epidemiologische und Erblchkeitsuntersuchungen bei rheumatischen Erkrankungen, insbesondere rheumatoider Arthritis (R.A.) und Spondylitis ankylopoetica (Sp.A.) Z. Rheumaforschg. 22, 413 (1963)

- 58) Decker, J.L., Barden, J.A.: Mycoplasma arthritis in the pig. In Dumonde, D.C. (ed.): Infection and Immunology in the rheumatic diseases. Oxford, Blackwell Scientific Publications. (1976)

- 59) De Blécourt, J.J., Boerma, F.W., Vorencamp, E.O.: Rheumatoid arthritis (R.A.) factor in near relatives of seropositive and sero-negative patients with rheumatoid arthritis. *Ann. rheum. Dis.* 21, 339 (1962)
- 60) DeHoratius, R.J., Abruzzo, J.L., Williams, R.C.: Immunofluorescent and immunologi studies of rheumatoid lung. *Arch. Intern. Med.* 129, 129 (1972)
- 61) DeVires, R.R.P., Kreeftenberg, H.G., Loggen, H.G., van Rood, J.J.: In vitro immune responsiveness to Vaccinia virus and HLA. *N. Engl. J. Med.* 297, 692 (1977)
- 62) Dias Da Silva, W., Eisele, J.W., Lepow, I.H.: Complement as a mediator of inflammation. *J. Exp. Med.* 126, 1027 (1967)
- 63) Dobloug, J.W., Chattopadhyay, C., Forre, O.: Con A-induced suppressor cell activity and T-lymphocyte subpopulations in peripheral blood lymphocytes of patients with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Scan. J. Immunol.* 15, 367 (1981)
- 64) Dutton, R.W.: Inhibitory and stimulatory effects of Concanavalin A on the response of mouse spleen cell suspension to antigen. *J. Exp. Med.* 136, 1445 (1972)

- 65) Eckstein, R., Mempel, W., Bolte, H.-D.: reduced suppressorcell-activity in congestive cardiomyopathie and in myocarditis. Circulation 65/6, 1224 (1982)
- 66) Eckstein, R., Mempel, W., Heim, M., Bolte, H.-D.: The role of human leukocyte antigen genes and low suppressor cell activity in the pathogenesis of myocarditis and dilated cardiomyopathy. In: Bolte (Hrsg.), Viral Heart Disease. Springer Verlag, Berlin p. 150 (1984)
- 67) Edwards, J.H.: HL-A and disease. The detection of associations. J. Immunogenet 1, 249 (1974)
- 68) Ellner, J.J., Schacter, B.Z., Bhe, F.T.: Tuberculin response of lymphocytes from human skin test non reactors: Evidence for in vitro primary sensitization of T-lymphocytes. Cell. Immunol. 45 213 (1979)
- 69) Erb, P.M., Feldmann, M.: The role of macrophages in the generation of T-helper-cells. II. The genetic control of the macrophage T-cell interaction for helper cell induction with soluble antigens. J. Exp. Med. 142, 460 (1975)

- 70) Erdös, E., Yang, H.Y.T.: Kinases. In "Bradykinin, Kallidin and Kallikrein", Handbook of Experimental Pharmacology. Springer Verlag, Heidelberg, p. 289 (1970)

- 71) Evanson, J.M., Jeffrey, J.J., Krane, S.M.: Studies on collagenase from rheumatoid synovium in tissue culture. J. Clin. Invest. 47, 2639 (1968)

- 72) Feldmann, M., Basten, A.: Cell interactions in the immune response in vitro. III. Specific collaboration across a cell impermeable membrane. J. Exp. Med. 136, 49 (1972)

- 73) Ferlmann, P., Nilsson, H., Leon, M.A.: Inhibition of cytotoxicity of lymphocytes by Concanavalin A in vitro. Science (Wash. D.C.) 168, 1112 (1970)

- 74) Fish, A.J., Michael, A.F., Gewurz, H., Good, R.A.: Immunopathologic changes in rheumatoid arthritis synovium. Arthritis Rheum. 9, 267 (1966)

- 75) Fudenberg, H.H.: Genetically determined immune deficiency as the predisposing cause of "autoimmunity" and lymphoid neoplasia. Am. J. Med. 51, 295 (1971)

- 76) Gajdusek, D.C.: Unconventional viruses and the origin and disappearance of kuru. Science 197, 943 (1977)

- 77) Gardner, D.L.: The pathology of rheumatoid arthritis. Arnolds, London (1972)

- 78) Gershon, R.K.: Disquisition on suppressor T-cells. Transplant. Rev. 26, 170 (1975)

- 79) Gershon, R.K.: T-cell control of antibody production. Contemp. Topics Immunobiol. 3, 1 (1974)

- 80) Ghadially, F.N., Roy, S.: Ultrastructure of synovial joints in health and disease. Butterworths, London (1969)

- 81) Gilliland, B.C., Mannik, M.: Rheumatoid Arthritis. In: Isselbacher, Adams, Braunwald, Petersdorf, Wilson (Hrsg.), Harrison's Principles of Internal Medicine. Mc Graw-Hill Kogakusha, Tokyo p. 1872 (1980)

- 82) Glynn, L.E.: Heberden Oration. The chronicity of inflammation and its significance in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 27, 105 (1968)

- 83) Goldenberg, A., Singer, J.M., Plotz, C.M.: Hereditary factors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 3, 446, (1960)

- 84) Goldmann, Sch.F.: Das Haupthistokompatibilitätssystem und die Genetik der Zuckerkrankheit. *Deutsch. Ärztebl.* 79/17, 45 (1982)

- 85) Good, R.A., Rötstein, J., Mazzitello, W.F.: The simultaneous occurrence of rheumatoid arthritis and agammaglobulinemia. *J. Lab. Clin. Med.* 49, 343 (1967)

- 86) Grayzel, A.I., Beck, C.: Rubella infection of synovial cells and the resistance of cells derived from patients with rheumatoid arthritis. *J. Exp. Med.* 131, 367 (1970)

- 87) Greenberg, L.J., Gray, E.D., Yunis, E.J.: Association of HL-A 5 and immune responsiveness in vitro to streptococcal antigens. *J. Exp. Med.* 141, 935 (1975)

- 88) Grimley, P.M., Sokoloff, L.: Synovial giant cells in rheumatoid arthritis. *Am. J. Clin. Pathol.* 49, 931 (1966)

- 89) Haldane, J.B.S.: The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frequencies. *Ann Human. Genet.* 20, 931 (1966)

- 90) Harris, F.D., Jr., Faulkner, C.S., Brown, F.F.: Collagenolytic systems in rheumatoid arthritis. Clin. Orthop. 110, 303 (1975)
- 91) Hartmann, F.: Erkrankungen der Gelenke. In: Gross, Schölmerich (Hrsg.), Lehrbuch der Inneren Medizin, Schattauer Verlag., Stuttgart, S. 968 (1977)
- 92) Hartmann, F., Deicher, H.: Bindegewebe. In: Siegenthaler (Hrsg.), Klinische Pathophysiologie. Thieme Verlag, Stuttgart, S. 882 (1973)
- 93) Harwald, B., Hauge, M.: Hereditary factors elucidated in twin studies. In "Genetics and the epidemiology of chronic diseases". Publication Nr. 1163 H.S. Couvernment Printing Office, Washington, D.C., p. 61 (1965)
- 94) Hedberg, H.: Studies on synovial fluid in rheumatoid arthritis. The total complement activity. Acta. Med. Scand. Suppl. 479 1, (1967)
- 95) Helenius, A., Morein, B., Fries, E., Simon, K., Robinson, P., Schirmacher, V., Terhorst, C., Strominger, J.L.: Human (HLA-A and HLA-B) and murine (H-2K and H-2D) histocompatibility antigens are cell surface receptors for Semliki Forest virus. Proc. Natl. Acad. Sci. 75, 3846 (1978)

- 96) Hollingsworth, J.W., Siegel, E.R., Creasy, W.A.: Granulocyte survival in synovial exsudate of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory joint diseases. Yale J. Biol. Med. 39, 289 (1967)

- 97) Horton, J.F., Oppenheim, J.J., Mergenhagen, S.E.: Macrophage lymphocyte synergy in the production of osteoclast activating factor. J. Immunol. 113, 1278 (1974)

- 98) Hotchin, J.: Persistent and slow virus infections. Monog. Viral 3, 1 (1971)

- 99) Hurd, E.R., Kinsella, T.D., Ziff, M.: Immunohistologic studies of synoviocytes and synovial exsudate cells. J. Exp. Med. 134, 296 (1971)

- 100) Information der deutschen Rheumaliga e. V. 2: Die Deutsche Rheumaliga stellt sich vor. (1976)

- 101) Jasin, H.E., Lo Spalluto, J.J., Ziff, M.: Rheumatoid hyperviscosity syndrome. Am. J. Med. 49, 484 (1970)

- 102) Kar, N.C., Cracchiolo, A., Mirra, J., Pearson, C.M.: Acid, neutral and alkaline hydrolases in arthritic synovium. *Am. J. clin. Pathol.* 65, 220 (1976)

- 103) Katz, D.H., Benacerraf, B.: The regulatory influence of activated T-cells on B-cell responses to antigen. *Adv. Immunol.* 15, 1 (1972)

- 104) Katz, D.H., Hamaoka, T., Dorf, M.E., Benacerraf, B.: Cell interaction between histoincompatible T- and B-lymphocytes. The H-2 gene complex determines successful physiologic lymphocyte interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 70, 2624 (1973)

- 105) Keystone, E.C., Gladman, D.D., Buchanan, R., Cane, D., Poplonski L.: Impaired antigen-specific suppressor cell activity in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 23, 246 (1980)

- 106) Kimura, H., Tateishi, H., Ziff, M.: Surface ultrastructure of rheumatoid articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 20, 1085 (1977)

- 107) Kindred, B., Shreffler, D.C.: H-2 dependence of cooperation between T- and B-cells in vivo. *J. Immunol.* 109, 940 (1972)

- 108) Kinsella, T.D., Baum, J., Ziff, M.: Studies of isolated synovial lining cells of rheumatoid and non-rheumatoid synovial membranes. *Arthritis Rheum.* 13, 734 (1970)
- 109) Kobayashi, J., Ziff, M.: Electron microscopic studies of lymphoid cells in the rheumatoid synovial membrane. *Arthritis Rheum.* 16, 471 (1973)
- 110) Korn, J.H., Halushka, P.V., LeRoy, E.C.: Suppression of growth and the phenotypic expression of fibroblasts by peripheral blood mononuclear cell supernatants: A role for prostaglandins. *Arthritis Rheum.* 21, 571 (1979)
- 111) Kulka, J.P., Bocking, D., Ropes, M.W., Bauer, W.: Early joint lesions of rheumatoid arthritis. *Arch. Pathol.* 59, 129 (1955)
- 112) Lawrence, J.S., Ball, J.: Genetic studies on rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 17, 160 (1958)
- 113) Lawrence, J.S., Laine, V.A.J., DeGraaf, R.: The epidemiology of rheumatoid arthritis in Northern Europe. *Proc. Soc. Med.* 54, 454 (1961)

- 114) Lawrence, J.S., Wood, P.H.N.: Genetic influences in rheumatoid arthritis. In "Rheumatic Diseases". Pfizer Medical Monogr. 3, p. 19 (1968)
- 115) Lloyd, T.M., Panush, R.S.: Cell-mediated immunity in rheumatoid arthritis. Impaired lymphocyte responsiveness, humoral immunosuppressants, and correlations with clinical status in patients of drug therapy. Journal of Rheumatology, 4, 231 (1977)
- 116) McKusick, V.A.: Mendelian inheritance in man. Baltimore, Johns Hopkins University Press. (1978)
- 117) McMichael, A.J., Sasazuki, T., McDevitt, H.O.: The immune response to diphtheria toxoid in humans. Transplant. Proc. Vol. IX, 1, Supplement 1, p. 191 (1977)
- 118) McMichael, A.J., Sasazuki, T., McDevitt, H.O., Payne, R.O.: Increased frequency of HLA- Cw3 and HLA- Dw4 in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 20, 1037 (1977)
- 119) Mellors, R., Heimer, R., Corcos, J.: Cellular origin of rheumatoid factor. J. Exp. Med. 110, 875 (1959)

- 120) Melmon, K.L., Cline, M.J.: Kallikrein activator and kininase in human granulocytes: A model of inflammation. In: Rocha, E., Silva, M. (eds.): Symposium on vasoactive polypeptides: Bradykinin and related kinins. Oxford, Pergamon Press (1967)

- 121) Menzel, J., Steffen, C., Kolarz, G., Kojer, M., Smolen, J.: Demonstration of anti-collagen antibodies in rheumatoid arthritis synovial fluids by ¹⁴C Radioimmunoassay. Arthritis Rheum. 21, 243 (1978)

- 122) Mergenhagen, S.E., Wahl, S.M., Horton, J.E., Raisz, L.G.: The role of lymphocytes and macrophages in the destruction of bone and collagen. Ann. N.Y. Acad. Sci. 256, 132 (1975)

- 123) Meyerowitz, S., Jacox, R.F., Hess, D.W.: Monoczygotic twins discordant for rheumatoid arthritis: A genetic, clinical and psychological study of eight sets. Arthritis Rheum. 11, 1 (1968)

- 124) Miller, J.F.A.P., Mitchell, G.F.: Thymus and antigen reactive cells. Transplant. Rev. 1, 3 (1969)

- 125) Mitchell, N., Blackwell, R.: The electron microscopy of regenerating synovium after subtotal synovectomy in rabbits. J. Bone Jt. Surg. 50 A, 675 (1968)

- 126) Mizerski, J., Chartrand, S., Gajlpeczalska, K.: Con-A- induced suppressor cells in man. I. Induction and characterization of suppressor cells. Immunobiol. 158, 270 (1981)

- 127) Müller-Erberhard, H.J., Bokisch, V.A., Budzko, D.B.: Studies of human anaphylatoxins and their physiological control mechanism. In "Immunopathology". Grune und Strotton, New York, p. 191 (1970)

- 128) Multicentre Study Group: Levamisole in rheumatoid arthritis. A randomised double-blind study comparing two dosage regimes of levamisole with placebo. Nancet 11, 1007 (1978)

- 129) Munro, A., Bright, S.: Products of the major histocompatibility complex and their relationship to the immune response. Nature 264, 145 (1976)

- 130) Munthe, E., Natvig, J.B.: Characterization of IgG complexes in eluates from rheumatoid tissue. Clin. Exp. Immunol. 9, 249 (1971)

- 131) Munthe, E., Natvig, J.B.: Complement- fixing intracellular complexes of IgG rheumatoid factor in rheumatoid plasma cells. Scand. J. Immunol. 1, 217 (1972)

- 132) Munthe, E., Natvig, J.B.: Immunoglobulin classes, subclasses and complexes of IgG rheumatoid factor in rheumatoid plasma cells. Clin. Exp. Immunol. 12, 55 (1972)

- 133) Nettelbladt, E., Sundblad, L.: Studies on serum haptoglobins in rheumatoid arthritis. Opusc. med. (Stockh.) 12, 223 (1967)

- 134) Netzel, B., Grosse-Wilde, H., Baumann, P., Mempel, W.: LD typing in man using cells frozen and stored in microtiterplates., Tis Ant. 6, 8 (1975)

- 135) Nowell, P.C.: Phytohemagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. Cancer Res. 20, 462 (1960)

- 136) Nyullassy, S., Ravingerova, G., Zvarova, E. und Bue, M.: HL-A antigens in rheumatoid arthritis. Lancet, 1, 450 (1974)

- 137) O'Brien, W.M., Bennett, P.H., Burch, T.A., Bunim, J.J.: A genetic study of rheumatoid arthritis and rheumatoid factor in Blackfeet and Pima Indians. Arthritis Rheum. 10, 163 (1967)

- 138) Ohlson, K.: Leukocyte collagenase and elastase and their inhibitors. In: Talamo R.C., Mangos, J.A., (eds.) "Fundamental problems of cystic fibrosis and related diseases". Symposia specialists, Miami, Fla. p. 173 (1973)

- 139) Ohlson, K.: Granulocyte collagenase and elastase and their interaction with α_1 -antitrypsin and α_2 -macroglobulin. In Reich, E. (eds.): Protease and Biological Control. Cold Spring Harbor Laboratories, pp 591, 602 (1975)
- 140) Ohno, O., and Cooke, T.D.: Electronmicroscopic morphology of immunoglobulin aggregates and their interactions in rheumatoid articular collagenous tissues. *Arthritis Rheum.* 21, 516 (1978)
- 141) Panayi, G.S., Wooley, P.H. und Batchelor, J.R.: HLA-DRw4 and rheumatoid arthritis. *Lancet*, 1, 730 (1979)
- 142) Panayi, G.S., Wooley, P.H.: B-lymphocyte allantigens in the study of the genetic basis of rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 36, 365 (1977)
- 143) Panush, R.: Non-specific suppressorfunction in rheumatoid arthritis, *I. Clin. Lab. Immunol.* 9, 59 (1982)
- 144) Paulus, H.E., Machleder, H.I., Bangert, R., Stratton, J.A., Goldberg, L., Whitehouse, M., YU, D.T.Y., Pearson, C.M.: A case report. Thoracic duct lymphocyte drainage in rheumatoid arthritis. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1, 173 (1973)

- 145) Pearson, C.M.: Transfer of adjuvant arthritis by means of lymph node or spleen cells. J. Belg. Rheumatol. Med. Phys. 24, 150 (1969)

- 146) Peavy, D.L., Pierce, C.W.: Cell-mediated immune responses in vitro. I. Suppression of the generation of cytotoxic lymphocytes by Concanavalin A and Concanavalin A-activated spleen cells. J. Exp. Med. 140, 356 (1974)

- 147) Pellegrino, M.A., Ferrone, S., Safford, J.W., Hirata, A.A., Terasaki, P.I., Reisfeld, R.A.: Stimulation of lymphocyte transformation by streptococcal type M 1 protein: Relationship to HL-A antigens. J. Immun. 109, 97 (1972)

- 148) Percy, J.S., Davis, P., Russell, A.S., Brisson, E.: A longitudinal study in vitro tests for lymphocyte function in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 37, 416 (1978)

- 149) Person, D.A., Rawls, W.E., and Sharp, J.T.: Replication of Rubella, Newcastle disease and vesicular stomatitis viruses in cultured rheumatoid synovial cells. Proc. soc. Exp. Biol. Med. 138, 748 (1971)

- 150) Poliverini, P.J., Cotran, R.S., Gimbrone, M.A., Jr., Unanue, E.R.:
Activated macrophages induce vascular proliferation. *Nature* 269,
804 (1977)

- 151) Pope, R.M.: Rheumatoid arthritis associated with hyperviscosity
syndrome and intermediate complex formation. *Arch. Intern. Med.*
135, 281 (1975)

- 152) Pope, R.M., Teller, D.C., Mannik, M.: The molecular basis of
self-association of antibodies to IgG (rheumatoid factor) in
rheumatoid arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71, 517 (1974)

- 153) Ramm, B., Hofmann, G.: *Biomathematik und medizinische Statistik*
Enke Verlag, Stuttgart, S. 305 (1976)

- 154) Rich, R.R., Pierce, C.W.: Biological expressions of lymphocyte
activation in vitro. *J. Exp. Med.* 137, 205 (1973)

- 155) Rich, R.R., Pierce, C.W.: Biological expressions of lymphocyte
activation. II. Generation of a population of thymus-derived
suppressor lymphocytes. *J. Exp. Med.* 137, 649 (1973)

- 156) Rich, R.R., Rich, S.S.: Biological expressions of lymphocyte activation. IV. Concanavalin A-activated suppressor cells in mouse Mixed Lymphocyte Reactions. *J. Immun.* 114, 1112 (1975)
- 157) Rodman, W.S., Williams, R.C., Jr., Bilka, P.J., Müller-Eberhard, H.J.: Immunofluorescent localization of the third and fourth component of complement in synovial tissues from patients with rheumatoid arthritis. *J. Lab. Clin. Med.* 69, 141 (1967)
- 158) Roitt, I.M., Corbett, M., Festenstein, H., Jaraquemada, D., Papasteriadis, C., Hay, F.C., Nineham, L.J.: HLA-DR W4 and the prognosis in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1, 990 (1978)
- 159) Ropes, M.W., Bennet, G.A., Cobb, S., Jacox, R., Jessar, R.A.: Revision of diagnostic criteria for rheumatoid arthritis. *Bull. Rheum. Dis.* 9, 175 (1958)
- 160) Rosenthal, A. S., Shevach, E.M.: Function of macrophages in antigen recognition by guinea pig T-lymphocytes. I. Requirement for histocompatible macrophages and lymphocytes. *J. Exp. Med.* 138, 1194 (1973)

- 161) Ruckdeschel, J.C., Graziano, K.D., Mardiney, M.R.: Additional evidence that the cell-associated immune system is the primary host defense against measles (rubeola). *Cell. Immunol.* 17, 11 (1975)

- 162) Ruddy, S., Colten, H.R.: Biosynthesis of complement proteins by synovial tissues. *N. Engl. J. Med.* 290, 1284 (1974)

- 163) Russel, A.S., Edelman, J.: The role of laboratory in rheumatology. 6. Lymphocytes. *Clin. Rheum. Dis.* 9/1, 117 (1983)

- 164) Ryder, L.P. and Svejgaard: Association between HLA and disease. *State Univ. Hosp.* (1976)

- 165) Sakane, T., Green, I.: Protein A from *Staphylococcus aureus* - a mitogen for human T-lymphocytes and B-lymphocytes but not L-lymphocytes. *J. Immun.* 120, 302 (1978)

- 166) Sakane, T., Taniguchi, Y., Honda, M., Kotani, H.: Suppressor T-cell activity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ryumachi* 21, 115 (1981)

- 167) Sakane, T., Takada, S., Murakawa, J., Kotani, H., Honda, M., Ueda, J.: Analysis of suppressor T-cell function in patients with rheumatoid arthritis: Defects in production of and responsiveness to Concanavalin A - induced Suppressor T-cells. J. Imm. 129/5 1972 (1982)
- 168) Sandritter, W., Beneke, G.: Abwehrmechanismen des Organismus. In: Sandritter, Beneke (Hrsg.), Allgemeine Pathologie. Schattauer Verlag, Stuttgart, S. 476 (1974)
- 169) Sandson, J., Hamerman, D.: Binding of an alpha globulin to hyaluronateprotein in pathological synovial fluids. Science 146, 70 (1964)
- 170) Sapolsky, A.I., Keiser, H.D., Howell, D.S., Woessner, J.F., Jr.: Metalloproteasen of human articular cartilage that digest cartilage proteoglycan at neutral and acid pH. J. Clin. Invest. 58, 1030 (1976)
- 171) Sharon, N., Lis, H.: Lectins: Cell-agglutination and sugarspecific proteins. Science 177, 949 (1972)
- 172) Shou, L., Schwartz, S.A., Good, R.A.: Suppressor cell activity after Concanavalin A treatment of lymphocytes from normal donors. J. Exp. Med. 143, 1100 (1975)

- 173) Sluvin, S., Strobers, S.: In vitro T-cell mediated function in patients with active rheumatoid arthriting. *Ann. Rheum. Dis.* 40, 60 (1981)

- 174) Smith, K.A., Chees, L., Mardiney, M.R.: The relationship between rubella hemagglutination inhibition antibody (HIA) and rubella induced in vitro lymphocyte tritiated thymidine incorporation. *Cell. Immunol.* 8, 321 (1973)

- 175) Sokoloff, L.: The pathology of rheumatoid arthritis and allied disorders. In "Arthritis and Allied Conditions". Lea and Febiger, Philadelphia, p. 309 (1972)

- 176) Stafford, Ch., Niedermeier, W., Holley, H.L., Pigman, W.: Studies on the concentration and intrinsic viscosity of hyaluronic acid in synovial fluids of patients with rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 23, 1526 (1964)

- 177) Stastny, P.: Association of the B-cell alloantigen DR W4 with rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.* 298, 869 (1978)

- 178) Stastny, P.: Mixed lymphocyte culture typing cells from patients with rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 4, 1148 (1974)

- 179) Stastny, P. und Fink, C.W.: HLA-Dw4 in adult and juvenile rheumatoid arthritis. Transplant. Proc. 9, 1863 (1977)

- 180) Steinberg, A.D., Klassen, L.W.: Role of suppressor T-cells in lymphopoietic disorders, Clin. Haematol. 6, 439 (1977)

- 181) Steven, F.S.: Evidence for a deficiency in intramolecular crosslinking in collagen fibrils isolated from rheumatoid joints. Ann. Rheum. Dis. 25, 563 (1966)

- 182) Stewart, S.M., Alexander, W.R.W., Duthie, J.J.R.: Isolation of diptheroid bacilli from synovial membrane and fluid in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 28, 477 (1969)

- 183) Symposium on cellular and soluble factors in the regulation of lymphocyte activation. Fed. Proc. 35, 2044 (1975)

- 184) Szenberg, A., Warner, N.L.: Immunological function of thymus and bursa of Fabricius. Dissociation of immunological responsiveness in fowls with a hormonally arrested development of lymphoid tissues. Nature 194, 146 (1962)

- 185) Tada, T., Tanaguchi, M., David, C.S.: Suppressive and enhancing T-cell factors as I-region gene products. Properties and the subregion assignment. Origins of lymphocyte diversity, XL; Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 41, 119 (1977)

- 186) Terasaki, P.I., McClelland, I.D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. Nature 204, 998 (1964)

- 187) Tomar, R.H., Taylor, F.B., Green, G.R.: Delayed hypersensitivity to SK-SD: In vitro lymphocyte study with an active component. J. Immun. 108, 231 (1972)

- 188) Tosato, G., Steinberg, A.D., Blaese, R.M.: Defective EBV-specific suppressor T-cell function in rheumatoid arthritis. N. Engl. J. Med. 19, 238 (1981)

- 189) Traycoff, R.B., Pascual, E., Schumacher, H.R., Jr.: Mononuclear cells in human synovial fluid. Identification of lymphoblasts in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 19, 743 (1976)

- 190) Trentham, D.E., Dynesius, R.A., Rocklin, R.E., David, J. R.: Cellular sensitivity to collagen in rheumatoid arthritis. N. Eng. J. Med. 299, 327 (1978)

- 191) Unterrichtung durch die Bundesregierung: Bericht über Maßnahmen zur Rheumabekämpfung. Drucksache 8/3625 (1980)
- 192) Van Boxel, J.A., Paget, S.A.: Predominantly T-cell infiltrate in rheumatoid synovial membranes. N. Engl. J. Med. 293, 517 (1975)
- 193) Van de Putte, L.B.A., Hegt, V.N., Overbeek, T.E.: Activators and inhibitors of fibrinolysis. Arthritis Rheum. 20, 671 (1977)
- 194) Vasalli, J.D., Reich, E.: Macrophage plasminogen activator: Induction by products of activated lymphoid cells. J. Exp. Med. 145, 427 (1977)
- 195) Vogelsang, H., Hein, G., Jäger, L.: Untersuchungen zur Suppressorzellaktivität bei rheumatoider Arthritis. Z. Rheumatol. 39, 141 (1980)
- 196) Vogelsang, H., Hein, G., Jäger, L.: Con-A-induzierbare Suppressoraktivität bei rheumatoider Arthritis. Z. Rheumatol. 41, 160 (1982)
- 197) Wahl, L.M., Wahl, S.M., Mergenhagen, S.E., Martin, G.R.: Collagenase production by lymphokine-activated macrophages. Science 187, 261 (1975)

- 198) Waksman, B.H., Namba, Y.: On soluble mediators of immunologic regulation. *Cell. Immunol.* 21, 161 (1976)

- 199) Waldmann, T.A., Broder, S.: Suppressor cells in the regulation of the immune response. In: Schwartz, R.S. (ed.) *Progress in Clinical Immunology*. Vol. 3, Grune & Stratton, New York p. 155 (1977)

- 200) Waldmann, T.A., Broder, S., Durm, M., Goldman, D., Muul, L.: Defects in immunoregulatory cell interactions in patients with immune dysfunction. *Prog. Immunol.* 3, 635 (1977)

- 201) Ward, P.A., Zwaifler, N.J.: Complement-derived leukoactive factors in inflammatory synovial fluids of humans. *J. Clin. Invest.* 50, 606 (1971)

- 202) Waxman, J., Lockshin, M.D., Schnapp, J.L., Doneson, I.N.: Cellular immunity in rheumatic diseases. I. Rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 16, 499 (1973)

- 203) Wegelius, O., Laine, V., Lindström, B., Klockars, M.: Fistula of the thoracic duct as immunosuppressive treatment in rheumatoid arthritis. *Acta. Medica. Scand.* 187, 539 (1970)

- 204) Weisman, M., Zvaifler, N.J.: Cryoglobulinemia in rheumatoid arthritis. Significance in serum of patients with rheumatoid vasculitis. J. Clin. Invest. 56, 725 (1975)
- 205) Werb, Z., Aggeler, J.: Proteases induce secretion of collagenase and plasminogen activator by fibroblasts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75, 1839 (1978)
- 206) Whitehouse, M.W., Whitehouse, D.J., Pearson, C.M.: Passive transfer of adjuvant-induced arthritis and allergic encephalomyelitis in rats using thoracic duct lymphocytes. Nature 224, 1322 (1969)
- 207) Williams, R.M., Benacerraf, B.: Genetic control of thymusderived cell function. I. In vitro DNA synthetic response of normal mouse spleen cells stimulated by the mitogens Concanavalin A and Phytohemagglutinin. J. Exp. Med. 135, 1279 (1972)
- 208) Winchester, R.J., Kunkel, H.G., Agnello, V.: Occurrence of gamma-globulin complexes in serum and in joint fluid of rheumatoid arthritis patients. J. Exp. Med. 134, 286 (1971)
- 209) Woolf, B.: On estimating the relation between blood groups and disease. Ann. Hum. Genet 19, 251 (1955)

- 210) Woolley, D.E., Crossley, M.J., Evanson, J.M.: Collagenase at sites of cartilage erosion in the rheumatoid joints. Arthritis Rheum. 20, 1231 (1977)

- 211) Woolley, D.E., Roberts, D.R. und Evanson, J.M.: Small weight β_1 -serum protein which specifically inhibits human collagenases. Nature 261, 325 (1976)

- 212) Ziff, M., Schmid, F.R., Lewis, A.J., Tanner, M.: Familial occurence of the rheumatoid factor. Arthritis Rheum. 1, 392 (1958)

- 213) Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C.: Activity of sensitized thymus derived lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis reflects immunological surveillance against self components. Nature 251, 547 (1974)

- 214) Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C.: Restriction of in vitro T-cell mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngenetic or allogenetetic system. Nature 248, 701 (1974)

- 215) Zvaifler, N.J.: Immunoreactant in rheumatoid synovial effusions. J. Exp. Med. 134, 276 (1971)

- 216) Zvaifler, N.J.: Immunpathology of joint inflammation in arthritis. Adv. Immunol. 16, 265 (1973)

Herrn Prof. Dr. Schattenkirchner und Herrn Prof. Dr. Mempel danke ich für die Überlassung dieser Arbeit und für die Möglichkeit, die Einrichtungen der Medizinischen Poliklinik und des Transfusionszentrums der Medizinischen Klinik III zu benutzen.

Bei der Durchführung leistete mir Herr Dr. med. R. Eckstein von der Medizinischen Klinik III / Transfusionszentrum Klinikum Großhadern Beistand. Seine unermüdliche Hilfsbereitschaft und freundliche Kritik erleichterten mir wesentlich die Einarbeitung in die Thematik.

Für die Unterstützung bei der medizinisch-technischen Durchführung der Arbeit danke ich insbesondere den Mitarbeiterinnen des Transfusionszentrums der Medizinischen Klinik III, Fräulein Angela Lehmeier, Ursula Mangold, Andrea Obkircher, Ingrid Otto, Annette Schleifer.

Für die Erstellung des Manuskripts danke ich insbesondere Fräulein Corinna Iwen.

Lebenslauf

Name	Josef Kattum
Geburtstag und -ort	6. Februar 1952 in Pfronten
Familienstand	verheiratet, 1 Kind
Eltern	Franz-Xaver Kattum, Metzgermeister Gertrud Kattum, Angestellte
1958 - 1963	Volksschule Pfronten
1963 - 1972	Gymnasium Hohenschwangau
1972	Abitur
1972 - 1973	Bundeswehr
1973 - 1978	Dental-Labor Graf, Füssen
1978 - 1983	Zahnmedizinstudium an der Ludwig- Maximilians-Universität München
1980	Vorphysikum
1981	Physikum
1983	Staatsexamen
seit Februar 1984	Assistenzarzt in freier Praxis in Kempten

